

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ**

**Ekologie a ochrana životního prostředí
Ochrana životního prostředí
Diplomová práce**

**ADSORPCE ORGANICKÝCH LÁTEK PRODUKOVANÝCH SINICÍ
MICROCYSTIS AERUGINOSA NA AKTIVNÍM UHLÍ**

**ADSORPTION OF ALGAL ORGANIC MATTER
PRODUCED BY *MICROCYSTIS AERUGINOSA*
ONTO ACTIVATED CARBON**

Magdalena Krsová

Vedoucí práce: RNDr. Martin Pivokonský, Ph.D.

Praha, srpen 2013

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně s využitím uvedené literatury a informací, na něž odkazuji. Svoluji k jejímu zapůjčení s tím, že veškeré (i přejaté) informace budou řádně citovány. Rovněž prohlašuji, že předložená diplomová práce je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

V Praze dne 13.8.2013

Magdalena Krsová

Poděkování:

Děkuji všem, kteří přispěli ke vzniku této diplomové práce. Rovněž oceňuji podmínky, které mi byly na Ústavu pro hydrodynamiku AV ČR, v .v. i. vytvořeny pro vypracování této práce.

Abstrakt

Diplomová práce je zaměřena na posouzení účinnosti dvou druhů granulovaného aktivního uhlí (GAU), Filtrasorb TL 830 a Picabiol 12x40, při adsorpci nízkomolekulárních celulárních peptidů produkovaných sinicí *Microcystis aeruginosa*, které jsou špatně odstranitelné konvenčními procesy úpravy vody založenými na koagulaci a flokulaci. Prostřednictvím laboratorních rovnovážných a kinetických adsorpčních testů byl zkoumán vliv odlišných vlastností obou GAU (povrchový náboj a texturní vlastnosti), peptidů (molekulová hmotnost, povrchové skupiny a náboj) a chemismu roztoku (iontová síla a hodnota pH) na odstranění peptidů z vodného roztoku. Výsledky prokázaly, že adsorpce peptidů je výrazně ovlivněna nábojovými poměry v systému, které závisí na pH roztoku. Tato hodnota přímo ovlivňuje jak náboj povrchu GAU a jeho nulový bod (pH_{nbn}), tak i disociaci a protonizaci funkčních skupin peptidů. Bylo zjištěno, že účinnost adsorpce peptidů se v případě obou GAU zvyšuje s poklesem pH do kyselé oblasti. Za těchto podmínek adsorpci posilují přitažlivé elektrostatické interakce mezi povrchem GAU a funkčními skupinami peptidů a pozitivně ji ovlivňují i konformační změny ve struktuře peptidů. Celkově nejvyšší adsorpční kapacity bylo dosaženo při pH 5 a použití GAU Picabiol 12x40 zřejmě díky vyššímu podílu mezopórů v jeho struktuře v porovnání s GAU Filtrasorb TL 830. Dále bylo prokázáno, že vyšší iontová síla roztoku může vést k posílení adsorpce peptidů díky potlačení odpudivých sil mezi peptidy a povrchem testovaných GAU a mezi peptidy navzájem. Analýzy vzorků po adsorpci potvrdily, že peptidy s nízkou molekulovou hmotností 1 – 4,5 kDa se adsorbují přednostně. Kromě hydrofobních interakcí, které obecně řídí adsorpci na GAU, byly jako významné interakce při adsorpci peptidů identifikovány elektrostatické síly a tvorba H-vazeb.

Klíčová slova: aktivní uhlí (AU), adsorpce, organické látky produkované fytoplanktonem (AOM), celulární organické látky (COM), *Microcystis aeruginosa*, pH roztoku, iontová síla

Abstract

The aim of this diploma thesis is to evaluate the efficiency of two types of granular activated carbon (GAC), Filtrasorb TL 830 and Picabiol 12x40, for the adsorption of cellular peptides with low molecular weight produced by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* that are hardly removable during the coagulation/flocculation processes. The effect of different carbon properties (surface charge, textural characteristics), peptide properties (molecular size, surface functionality and charge) and solution characteristics (ionic strength and pH value) on the peptide uptake was investigated using laboratory equilibrium and kinetic adsorption experiments. The results showed that adsorption of peptides was influenced by the charge conditions in adsorption system that depend on solution pH. The pH value influences surface charge and the point of zero charge (pH_{pzc}) of GAC as well as dissociation and protonization of peptide functional groups. It was found that efficiency of the peptide adsorption increased with decreasing pH value for both GACs. Under these conditions adsorption was enhanced by attractive electrostatic interactions between GAC surface and peptide functional groups and was also positively influenced by the conformation changes in peptide structure. GAC Picabiol 12x40 showed the total highest adsorption capacity at pH 5 due to high portion of mesopores compared with GAU Filtrasorb TL 830. It was also demonstrated that higher ionic strength of the solution may enhance adsorption of the peptides due to screening of repulsive forces between GAC and the peptides and between the peptides themselves. The analyses of samples after the adsorption experiments proved that peptides with low molecular weight of 1 – 4.5 kDa were adsorbed preferentially. The present work demonstrated that besides hydrophobic interactions, which generally control the adsorption onto activated carbon, electrostatic interactions and H-bonds play essential role during the adsorption of polyelectrolytes such as peptides onto GAC.

Key words: activated carbon (AC), adsorption, algal organic matter (AOM), cellular organic matter (COM), *Microcystis aeruginosa*, solution pH, ionic strength

Seznam použitých zkratk a symbolů

AC/GAC – activated carbon/granular activated carbon

a_l [$\text{l}\cdot\text{mg}^{-1}$] – parametr charakterizující energii adsorpce pro daný adsorbent, adsorbát a teplotu

AOM (Algal Organic Matter) – organické látky produkované fytoplanktonem

AU/GAU – aktivní uhlí/granulované aktivní uhlí

BET – Brunauer–Emmett–Teller

C_0 [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – počáteční koncentrace COM peptidů v roztoku

C_e [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – rovnovážná koncentrace COM peptidů v roztoku

COM (Cellular Organic Matter) – celulární organické látky

d [nm] – průměr

DAD (Diode Array Detector) – detektor s diodovým polem

DOC (Dissolved Organic Carbon) [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – rozpuštěný organický uhlík

DOC_{NP} [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – rozpuštěný organický uhlík neproteinových látek

DOC_P [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – rozpuštěný organický uhlík proteinových látek

DOC_T [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – celkový rozpuštěný organický uhlík

DOM (Dissolved Organic Matter) – rozpuštěné organické látky

EOM (Extracellular Organic Matter) – extracelulární organické látky

EPA (Environmental Protection Agency) – Agentura pro ochranu životního prostředí

FTL – Filtrasorb TL 830

$[\text{H}^+]_i$ a $[\text{H}^+]_f$ [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] – počáteční (initial) a konečná (final) koncentrace H^+

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography) – vysokoúčinná velikostně rozdělující chromatografie

IC (Inorganic Carbon) [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – anorganický uhlík

IEF – izoelektrická fokusace

IS – iontová síla

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) – Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii

k_1 [h^{-1}] – rychlostní konstanta pseudo 1. řádu

k_2 [$\text{g}(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$] – rychlostní konstanta pseudo 2. řádu

K_f [(mg·g⁻¹)(1·mg⁻¹)^{1/n}] – konstanta charakterizující adsorpční kapacitu
 K_l [mg·g⁻¹] – maximální množství adsorbátu potřebné k pokrytí adsorbentu monovrstvou
 LS/MS/MS (Liquid chromatography–mass spectrometry) – vysokotlaká kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií
 m [g] – hmotnost vzorku
 MC-LA – microcystin- LA (L – leucin, A – alanin)
 MC-LR – microcystin-LR (L – leucin, R – arginin)
 MC-RR – microcystin-RR (R – arginin)
 MC-YR – microcystin-YR (Y – tyrosin, R – arginin)
 MH [kDa] – molekulová hmotnost
 n [-] – parametr závislý na typu adsorbentu, adsorbátu a teplotě
 NOM (Natural Organic Matter) – přírodní organické látky
 N_t [mol·l⁻¹] – normalita titračního činidla
 $[OH^-]_i$ a $[H^+]_f$ [mol·l⁻¹] – počáteční (initial) a konečná (final) koncentrace H⁺
 PCB – Polychlorované bifenyly
 pE [-] – bod ekvivalence (pE_{q1} , pE_{q2} , pE_{q3})
 pH_{nbn} [-] – pH nulového bodu náboje (pH_{pzc} – pH Point of Zero Charge)
 pI [-] – izoelektrický bod
 PIC – Picabiol 12x40
 pI_T [-] – celkový izoelektrický bod směsi peptidů
 pK [-] – disociační konstanta (pK_1 , pK_2 , pK_3)
 pK_a [-] – disociační konstanta kyseliny
 PSD (Pore Size Distribution) – velikostní distribuce pórů
 Q [μmol·m⁻²] – povrchový náboj
 q_e [mg·g⁻¹] – neboli Γ povrchová koncentrace adsorbátu na GAU [mg·g⁻¹]
 q_t [mg·g⁻¹] – povrchová koncentrace adsorbátu v čase t
 R^2 [-] – koeficient determinace
 S_{BET} [m²·g⁻¹] – specifický povrch stanovený metodou dle Brunauera, Emmetta a Tellera
 SEM – skenovací elektronová mikroskopie
 S_{mezo} [m²·g⁻¹] – povrch mezopórů
 t [h] – čas

TC (Total Carbon) [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – celkový uhlík

TOC (Total Organic Carbon) [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] – celkový organický uhlík

V [l] – objem roztoku

V_0 [l] – počáteční objem roztoku

V_{mikro} [$\text{cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$] – objem mikropórů

V_t [l] – objem přidaného titračního činidla

V_{total} [$\text{cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$] – celkový objem pórů

WHO (World Health Organization) – Světová zdravotnická organizace

OBSAH

Abstrakt.....	4
Seznam použitých zkratk a symbolů.....	6
1 ÚVOD.....	11
2 REŠERŠNÍ ČÁST	13
2.1 Adsorpce.....	13
2.1.1 Faktory ovlivňující adsorpci na aktivním uhlí	13
2.1.2 Typy adsorpce	14
2.1.3 Interakce při adsorpci.....	15
2.1.4 Adsorpční rovnováha	15
2.1.5 Adsorpční izotermy.....	16
2.1.6 Adsorpční kinetika	18
2.2 Aktivní uhlí	19
2.2.1 Původ a výroba	19
2.2.2 Strukturní a porézní vlastnosti	20
2.2.3 Chemismus povrchu.....	23
2.2.4 Povrchový náboj	24
2.3 Přírodní organické látky	25
2.3.1 Organické látky produkované fytoplanktonem.....	25
2.3.2 Nežádoucí účinky AOM	26
2.4 Chemismus roztoku.....	27
2.4.1 Vliv pH.....	28
2.4.2 Vliv iontové síly.....	30
3 MATERIÁLY A METODIKA.....	32
3.1 Charakterizace adsorbentů	32
3.1.1 Analýza strukturních vlastností.....	32
3.1.2 Stanovení povrchového náboje	33
3.2 Charakterizace adsorbátu	34
3.2.1 Kultivace a příprava vzorku COM.....	34
3.2.2 Izolace a stanovení podílu proteinů/peptidů	34
3.2.3 Stanovení koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC).....	35
3.2.4 Zastoupení molekulových hmotností.....	35
3.2.5 Stanovení povrchového náboje	36
3.2.6 Určení izoelektrických bodů	36
3.2.7 Analýza mikrocystinů	37
3.3 Rovnovážné adsorpční testy.....	37
3.4 Kinetické testy.....	38
3.5 Analýza dat.....	38
4 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	40
4.1 Základní charakteristika adsorbentů.....	40

4.1.1	Texturní vlastnosti	40
4.1.2	Povrchový náboj	42
4.2	Charakterizace COM peptidů.....	43
4.2.1	Zastoupení molekulových hmotností.....	44
4.2.2	Nábojové charakteristiky	45
4.3	Adsorpční rovnovážné testy	46
4.3.1	Adsorpční izotermy.....	46
4.3.2	Vliv iontové síly.....	51
4.3.3	Kinetika adsorpce COM peptidů	54
4.3.4	Distribuce molekulových hmotností COM peptidů po adsorpci	57
5	ZÁVĚR	59
6	LITERÁRNÍ ZDROJE	61

1 ÚVOD

Řasy a sinice se vyskytují ve všech povrchových zdrojích vod včetně těch, které jsou využívány pro vodárenské účely. Pokud jsou jejich populace nízké, nepředstavují obvykle žádné problémy. V důsledku zvýšené eutrofizace povrchových vod však dochází k masivnímu sezónnímu rozvoji sinic a řas, který může být z mnoha důvodů problematický (Takaara a kol., 2007; Henderson a kol., 2008).

Sinice v průběhu svého života i po odumření uvolňují řadu organických látek, které mohou narušovat konvenční proces úpravy pitné vody. V případě, že je úpravárenský proces nevhodně nastaven, může v důsledku toho docházet ke špatnému formování flokulí, zanášení membrán, zhoršení organoleptických vlastností vody, ale především k nutnosti zvyšovat dávky koagulantů (Bernhardt a kol., 1985; Her a kol., 2004; Takaara a kol., 2007). Vysoké zbytkové koncentrace sinicových organických látek mohou také vést ke vzniku karcinogenních vedlejších produktů při hygienickém zabezpečení upravované vody (Chen a kol., 2008). Kromě toho je celá řada sinic schopna produkovat toxiny s mnohdy velmi závažnými zdravotními důsledky (Codd, 2000; Gupta a kol., 2003; Oberholster a kol., 2004). K nejvýznamnější z nich patří zejména skupina microcystinů produkovaných sinicí *Microcystis aeruginosa*, které jsou považovány za zvláště nebezpečné neuro- a hepatotoxiny. Patří také mezi nejčastěji se vyskytující třídu cyanotoxinů v přirozených vodách i vodárenských nádržích, a proto se v posledních letech dostaly do popředí zájmu řady výzkumných týmů (Campinas a Rosa, 2006; Huang a kol., 2007).

Organické látky, které sinice a řasy produkují během svého životního cyklu, jsou obecně označovány jako AOM (Algal Organic Matter). Dle původu je lze rozdělit na látky extracelulární (EOM, Extracellular Organic Matter) vznikající metabolickou exkrecí a látky celulární (COM, Cellular Organic Matter), tj. buněčného původu, které se do vodního prostředí uvolňují při odumírání buněk mikroorganismů a jejich rozpadu. Obecněji lze pak AOM považovat za součást přírodních organických látek (NOM, Natural Organic Matter), které kromě nich zahrnují i zcela odlišnou skupinu látek huminového charakteru (Takaara a kol., 2007).

Konvenční úprava pitné vody procesem koagulace obvykle vede k odstranění buněk sinic. Nicméně účinnost odstranění sinicových organických látek, které jsou v upravované vodě v rozpuštěné formě, bývá v řadě vodárenských provozů jen velmi malá. Často se jedná zejména o složky COM s nízkou molekulovou hmotností (zejména peptidy) (Pivokonský a kol., 2006,

2009), u nichž se jako jedno z vhodných řešení nabízí zařazení doplňujícího úpravárenského procesu, kterým je například adsorpce na aktivním uhlí (AU) (Hnatuková a kol., 2011). AU je díky svým specifickým strukturním i chemickým vlastnostem vhodné k odstraňování nejrozličnějších organických kontaminantů antropogenního i přírodního původu, např. pesticidů, těžkých kovů, PCB, léčiv, NOM, případně látek zhoršujících organoleptické vlastnosti vody (Chen a kol., 2003).

Převážná většina odborné literatury týkající se adsorpce NOM na AU je zaměřena na odstraňování látek huminového charakteru (huminy, huminové kyseliny a fulvokyseliny) (Bjelopavlic a kol., 1999). V posledních letech se však ukazuje, že hlavní problém představuje sezónní rozvoj fytoplanktonu doprovázený zvýšenou koncentrací AOM. Předmětem této diplomové práce proto bude zhodnocení účinnosti a popis hlavních mechanismů adsorpce celulórních složek AOM na AU, které může přispět ke zvýšení účinnosti jejich odstranění z pitné vody.

Cíle diplomové práce:

Hlavní cíl:

Posouzení účinnosti adsorpce COM peptidů produkovaných sinicí *Microcystis aeruginosa* na aktivním uhlí.

Dílčí cíle:

- Podrobná charakterizace vybraných adsorbentů z hlediska strukturních vlastností (velikostní distribuce pórů, specifický povrch) a povrchového náboje.
- Charakterizace COM peptidů sinice *M. aeruginosa* z hlediska zastoupení relativních molekulových hmotností (MH) a nábojových charakteristik (stanovení izoelektrických bodů a funkčních skupin).
- Popis vlivu základních vlastností roztoku (pH a iontová síla) na účinnost odstranění COM peptidů pomocí AU.
- Identifikace mechanismů a interakcí, které se mohou na adsorpci COM peptidů na AU podílet.

2 REŠERŠNÍ ČÁST

2.1 Adsorpce

Adsorpce je jev, při kterém dochází k hromadění plynné, kapalné či rozpuštěné pevné látky na povrchu jiné pevné látky, která má obvykle pórovitý charakter. Materiál adsorbující se na pevnou látku, je definován jako adsorbát. Pevná látka, na jejímž povrchu se molekuly adsorbují, se označuje jako adsorbent. Rozdělování dané adsorbované složky v systému je doprovázeno zvýšením její koncentrace v oblasti mezifází ve srovnání s okolní objemovou fází (LeVan a kol., 1997; Dabrowski, 2001).

Adsorpce má v praxi široké využití při odstraňování různých přírodních i antropogenních polutantů z pitné a odpadní vody. Často používanými adsorbenty jsou přírodní a syntetické zeolity, silikagely, hydratované oxidy hliníku nebo železa a především pak aktivní uhlí (Bjelopavlic a kol., 1999; Syamsiah a Hadi, 2004; Mohan a Pittman, 2007).

Během procesu úpravy pitné vody je důležité přesně pochopit vliv heterogenity systému na proces adsorpce. Organické a anorganické složení přírodních vod se může značně lišit v závislosti na jejich zdroji a sezónních podmínkách. Zároveň se chemismus vody mění i při samotné úpravě, například stabilizací vody a úpravou pH, přidávkem různých chemikálií, zvláště oxidantů, koagulantů a chloračních činidel. V závislosti na metodě přípravy a typu surového materiálu použitého při výrobě se může lišit i charakter vlastností používaného AU. Pro správné fungování adsorpce a dosažení její maximální účinnosti je třeba každý z těchto faktorů vzít v úvahu a náležitě je vyhodnotit (Karanfil, 2006).

2.1.1 Faktory ovlivňující adsorpci na aktivním uhlí

Adsorpční mechanismy jsou velice komplikované procesy. Ovlivňují je různé faktory, které přímo souvisí s vlastnostmi adsorbentu, adsorbátu i samotného vodného roztoku. Obecně je lze rozdělit na faktory fyzikální a chemické.

Z fyzikálních faktorů je důležitý nejen specifický povrch adsorbentu, ale zejména velikost a distribuce jeho pórů vzhledem k velikosti adsorbované molekuly NOM (Pelekani a Snoeyink, 1999). Mezi chemické faktory lze zařadit chemismus povrchu AU i NOM (obsah povrchových funkčních skupin, povrchový náboj) a vlastnosti roztoku (pH, iontová síla, teplota,

složení) (Karanfil a kol., 1996; Newcombe a Drikas, 1997; Karanfil a kol., 1998; Campinas a Rosa, 2006). Funkční skupiny na povrchu NOM i AU mají v mnoha případech přímý vliv na účinnost a adsorpční kapacitu uhlí (Karanfil a kol., 1996).

2.1.2 Typy adsorpce

Při adsorpci látek na povrch adsorbentu se obvykle uplatňují tři základní typy sil, dle kterých lze pak rozlišit tři hlavní typy adsorpce: fyzikální (fyzisorpce), chemickou (chemisorpce) a iontovou (Sing, 1982; LeVan a kol., 1997; Dabrowski, 2001; Bindzar a kol., 2009). Při fyzikální adsorpci jsou molekuly adsorbátu vázány k povrchu adsorbentu van der Waalsovými silami. Tyto síly sice nejsou příliš silné, ale uplatňují se mezi všemi druhy částic. Adsorpce díky nim probíhá na celém povrchu adsorbentu, a proto je nespecifická. Na první adsorbované vrstvě molekul se může adsorbovat další vrstva (vícevrstvá adsorpce). Za určitých podmínek (zvýšení teploty) může docházet k uvolnění adsorbátu (desorpci) zpět do roztoku, protože vazebné síly jsou poměrně slabé. Rychlost adsorpce tak s rostoucí teplotou klesá. Fyzisorpce nastává při teplotě nižší nebo blízké kritické teplotě adsorbované látky, a proto je uvolňované adsorpční teplo relativně nízké. Fyzikální adsorpce je velmi rychlá a nastává okamžitě. Při chemické adsorpci naopak vzniká mezi molekulou adsorbátu a adsorbentu chemická vazba a dochází tak ke sdílení vazebných elektronů obou složek. Tato adsorpce je specifická, jelikož probíhá pouze v místech s vyšší energií (tzv. aktivní centra), a k vytvoření vazby je zapotřebí aktivační energie (Sing, 1982; LeVan a kol., 1997; Dabrowski, 2001). Chemisorpce je monovrstvá, může se adsorbovat pouze jedna vrstva molekul. Pokud vzniká více vrstev, jsou další vrstvy vázány již jen fyzikálními silami, nikoliv chemickou vazbou. Jde obvykle o nevratný děj, adsorpční tepla jsou ve srovnání s fyzisorpcí vyšší a rychlost celého procesu naopak pomalejší (Sing, 1982; LeVan a kol., 1997; Dabrowski, 2001). Iontovou adsorpci lze rozdělit na prostou, kdy dochází k adsorpci jednoho typu iontu a povrch adsorbentu tak získá náboj, a na výměnnou adsorpci, při které dochází k výměně iontů mezi adsorbentem a adsorbátem. V tomto případě se pak náboj AU nemění. V praxi se mohou uplatňovat různé typy adsorpce najednou nebo se mohou střídát. Jednotlivé síly se mohou navíc vzájemně ovlivňovat, proto je obtížné rozlišit jejich jednotlivé podíly (Dabrowski, 2001; Bindzar a kol., 2009).

2.1.3 Interakce při adsorpci

Adsorpční interakce na AU lze obecně rozdělit na elektrostatické a neelektrostatické (specifické), které mohou adsorpci posílit nebo omezit (Bjelopavlic a kol., 1999; Moreno-Castilla, 2004).

Elektrostatické interakce se obecně uplatňují pouze v případě adsorbátu ve formě elektrolytu, který se může v roztoku vyskytovat v disociované nebo protonizované formě. Tyto interakce mohou být přitažlivé nebo odpudivé v závislosti na náboji AU a NOM a na vlastnostech roztoku (Moreno-Castilla, 2004). Jejich základem jsou coulombické a dipólové interakce zahrnující dle Bjelopavlice a kol., (1999):

- Interakce mezi povrchem AU a NOM, které v případě shodného náboje obou složek adsorpci brání, a v případě opačných nábojů ji mohou posilovat.
- Postranní (laterální) elektrostatické odpuzování mezi naadsorbovanými molekulami NOM, které adsorpci omezuje.
- Odpudivé interakce mezi naadsorbovanými NOM a NOM v roztoku omezující adsorpci.

Specifické (neelektrostatické) interakce jsou vždy přitažlivé a zahrnují:

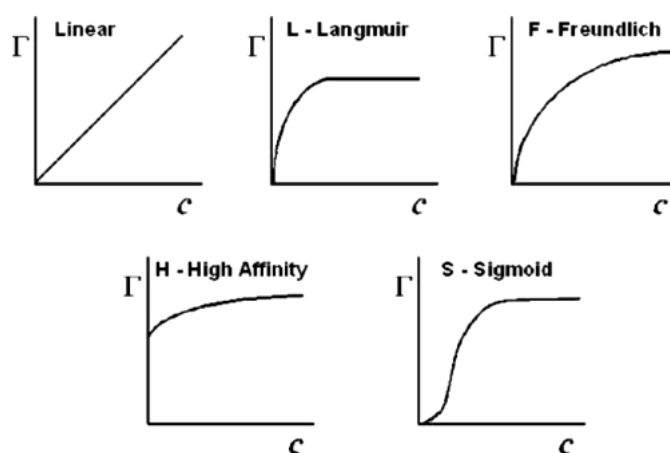
- Hydrofobní interakce mezi hydrofobními částmi NOM a povrchem AU.
- π -interakce mezi aromatickými částmi NOM a povrchem uhlí.
- Vodíkové můstky mezi funkčními skupinami na povrchu NOM a AU.

2.1.4 Adsorpční rovnováha

Při adsorpci látek na AU jejich koncentrace v roztoku postupně klesá a blíží se k tzv. rovnovážné koncentraci. Ve chvíli, kdy se pokles koncentrace v roztoku zcela zastaví, je dosaženo adsorpční rovnováhy. Ta určuje maximální množství látky, které se za daných podmínek může adsorbovat a odstranit tak z roztoku (Dabrowski, 2001). Adsorpční kapacita pro dané adsorbované látky je jedním z nejdůležitějších kritérií při výběru vhodného adsorbentu. Nejlepší způsob pro její zjištění je vytvoření modelů rovnovážných adsorpčních izoterem.

2.1.5 Adsorpční izotermy

Adsorpční izotermy vyjadřují závislost mezi adsorbovaným množstvím určité látky a její rovnovážnou koncentrací v roztoku za konstantní teploty a jsou základem pro popis adsorpce (Snoeyink a Summers, 1999). Průběh izoterem a jejich tvar se často liší v závislosti na povaze adsorpčního jevu a typu použitého adsorbentu. Rozdíly zjištěné mezi jednotlivými AU mohou následně pomoci při výběru nejvhodnějšího uhlí pro konkrétní aplikaci (Moreno-Castilla, 2004). Hlavní typy izoterem, které popisují rovnováhu adsorpce organických látek na AU, jsou zobrazeny na Obr. 1.



Obr. 1 Základní typy adsorpčních izoterem (c je rovnovážná koncentrace adsorbátu v roztoku [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$], Γ je povrchová koncentrace, tj. množství naadsorbované na AU [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]) (převzato z: Moreno-Castilla, 2004).

Adsorpční izotermy lze rozdělit dle různých kritérií na několik typů. Jedním z nich jsou lineární izotermy (Linear), které nejsou při adsorpci na AU příliš běžné, ale vyskytují se v počáteční fázi všech izoterem popisujících adsorpci na homogenním povrchu (Moreno-Castilla, 2004). Pro monovrstvou adsorpci byla odvozena Langmuirova izoterma (L-Langmuir), která je charakteristická pro mikroporézní pevný materiál s relativně malým vnějším povrchem (např. AU, zeolity a některé porézní oxidy) a snížení adsorpce je v tomto případě způsobeno spíše objemem přístupných mikropórů než vnitřním povrchem (Sing, 1982). Freundlichova izoterma (F-Freundlich) patří k nejběžnějším typům izoterem a slouží k popisu typického průběhu adsorpce na heterogenním povrchu AU. Izotermy vysoké afinity (H-High Affinity) jsou

charakteristické velmi strmým počátečním vzestupem, po kterém dochází k ustálení rovnováhy. Sigmoidální izoterma (S-Sigmoid) je charakteristická pro adsorbenty s homogenním povrchem, například pro některé druhy AU vyrobené z černého uhlí (Moreno-Castilla, 2004).

Langmuirova izoterma

Původní publikovaný model této izotermy (Langmuir, 1916) popisoval adsorpci plynů na pevných látkách. Po splnění následujících základních předpokladů je ale dnes standardně používán k popisu adsorpce z roztoku (Bartovská a Šišková, 2005; Bindzar a kol., 2009):

- a) povrch adsorbentu je homogenní a všechna adsorpční místa mají stejnou energii;
- b) adsorbované molekuly se navzájem neovlivňují;
- c) adsorpce všech molekul probíhá stejným mechanismem;
- d) při maximální adsorpci vzniká pouze monovrstva a molekuly adsorbátu se již neadsorbují na jiné ale pouze na volný povrch adsorbentu (vhodná pro popis chemisorpce).

Langmuirovu izotermu odvozenou pro adsorpci z roztoků lze vyjádřit rovnicí (Zhang a kol., 2011):

$$q_e = K_l \frac{a_l C_e}{1 + a_l C_e} \quad (1)$$

q_e je povrchová koncentrace adsorbátu [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$]

C_e je rovnovážná koncentrace adsorbátu v roztoku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

K_l je maximální množství adsorbátu potřebné k pokrytí adsorbentu monovrstvou [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$]

a_l je parametr charakterizující energii adsorpce [$\text{l} \cdot \text{mg}^{-1}$] pro daný adsorbent, adsorbát a teplotu

Freundlichova izoterma

Vyjadřuje stejně jako Langmuirova izoterma závislost adsorbovaného množství dané látky z roztoku na její rovnovážné koncentraci. Narozdíl od Langmuirovy izotermy ale tato izoterma nevykazuje ani při vysokých koncentracích limitní hodnotu adsorbovaného množství. Jedním z jejích základních předpokladů je adsorpce na heterogenní povrch s exponenciálním rozložením energií adsorpčních míst (LeVan a Vermeulen, 1981; Bindzar a kol., 2009). Tato

izoterma má velké uplatnění v technologii vody a je popisována pomocí následující rovnice (Zhang a kol., 2011):

$$q_e = K_f C_e^{\frac{1}{n}} \quad (2)$$

q_e je povrchová koncentrace adsorbátu [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$]

C_e je rovnovážná koncentrace adsorbátu v roztoku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

K_f je konstanta charakterizující adsorpční kapacitu [$(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})(\text{l} \cdot \text{mg}^{-1})^{1/n}$]

n je parametr závislý na typu adsorbentu, adsorbátu a teplotě [-]

2.1.6 Adsorpční kinetika

Průběh adsorpce v závislosti na čase je charakterizován kinetikou, která určuje rychlost odstranění jednotlivých složek z roztoku (Dabrowski, 2001). Adsorpci organických látek na materiálu, jakým je například aktivní uhlí, lze popsat třemi na sebe navazujícími kroky:

- 1) transport adsorbátu k vnějšímu povrchu AU (vnější difúze)
- 2) průnik adsorbátu z povrchu AU do pórů (vnitřní difúze)
- 3) vlastní adsorpce daného adsorbátu (obsazení adsorpčních míst)

Rychlost celé adsorpce řídí její nejpomalejší krok. V případě fyzikální adsorpce jím bývá vnitřní difúze, naopak vlastní adsorpce je velmi rychlá, prakticky okamžitá a celkovou kinetiku neovlivňuje. V případě chemisorpce je nejpomalejším dějem vlastní adsorpce (Faust a Aly, 1998; Bartovská a Šišková, 2005).

Ke zjištění mechanismu adsorpce a její potenciální rychlosti se používají kinetické modely pseudo-prvního (3) a pseudo-druhého řádu (4) (Ip a kol., 2010; Zhang a kol., 2011):

$$q_t = q_e (1 - e^{-k_1 t}) \quad (3)$$

$$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t} \quad (4)$$

q_t je povrchová koncentrace adsorbátu v čase t [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]

q_e je povrchová koncentrace adsorbátu v rovnováze [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]

k_1 je rychlostní konstanta pseudo 1. řádu [h^{-1}]

k_2 je rychlostní konstanta pseudo 2. řádu [$\text{g}(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$]

t je čas adsorpce [h]

2.2 Aktivní uhlí

Aktivní uhlí je materiál obsahující 87 – 97 % uhlíku a další prvky jako kyslík, vodík, dusík a síru. Využívá se v praxi jako adsorbent pro odstraňování přírodních i antropogenních polutantů z kapalných a plynných fází. Velmi účinné je například pro adsorpci aromátů (Salame a Bandosz, 2003; Moreno-Castilla, 2004), barviv (Faria a kol., 2004), těžkých kovů (Chen a kol., 2003), léčiv (Terzyk, 2004) a přírodních organických látek (Bjelopavlic a kol., 1999). Charakteristickým rysem AU, který ovlivňuje jeho schopnost účinně odstraňovat z vody řadu polutantů, je velký vnitřní povrch. Ten je dán především sítí různě velkých pórů vznikajících při výrobě AU (Jaroniec a Choma, 2006). Dalším důležitým rysem ovlivňujícím adsorpci je přítomnost různých funkčních skupin, které udělují povrchu AU specifické vlastnosti a hrají rozhodující roli při vytváření chemických vazeb mezi adsorbentem a adsorbátem (Din a kol., 2009).

2.2.1 Původ a výroba

AU je vyráběno z pevných uhlíkatých materiálů, které mají organický původ. Za vhodné prekurzory AU jsou považovány materiály s vysokým obsahem uhlíku a nízkým obsahem anorganických látek, například uhlí, dřevo, skořápky kokosových ořechů, ovocné a olivové pecky, lignit, ropný koks nebo rašelina (Martin-Gullon a kol., 1993; Adinata a kol., 2007; Cazetta a kol., 2013). Výsledné vlastnosti produktu jsou závislé nejen na vybraném prekurzoru, ale i na výrobním procesu zahrnujícím dva hlavní kroky - karbonizaci a aktivaci (Caturla a kol., 1991; Wang a kol., 2008; Din a kol., 2009).

Při karbonizaci dochází v inertním prostředí ke zuhelnatění daného materiálu působením tepla (400 – 1000 °C). Při tomto procesu se z uhlí odstraní anorganické prvky (např. O, H, S),

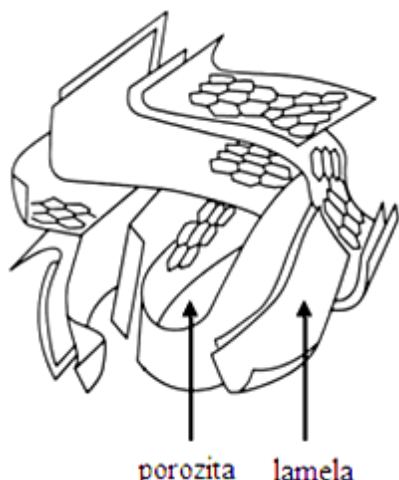
uhlíkové atomy se spojují do krystalů a vytváří uspořádanou strukturu. První vytvořené póry zůstávají z velké míry zaplněné dehtem a je třeba je dále rozšířit procesem aktivace, který probíhá při teplotě 600 – 900 °C. Během tohoto procesu dochází nejen k vyčištění zanesených pórů, ale i ke zvýšení vnitřního povrchu uhlí. Aktivaci lze provést fyzikálně, chemicky nebo kombinací obojího (Caturla a kol., 1991; Wang a kol., 2008; Din a kol., 2009):

- Fyzikální aktivace: surový materiál je nejprve karbonizován a následně pak aktivován vodní párou, kyslíkem či oxidem uhličitým.
- Chemická aktivace: surový materiál je nejprve napuštěn aktivačním činidlem (např. hydroxid draselný, chlorid zinečnatý nebo kyselina dusičná) a pak zahříván. Karbonizace i aktivace jsou prováděny zároveň. Výhodou chemické aktivace je nižší teplota pyrolýzy, při které vzniká více tuhého uhlíku a menší množství dehtu, a proto se struktura pórů lépe vyvíjí (Smíšek a Černý, 1964).

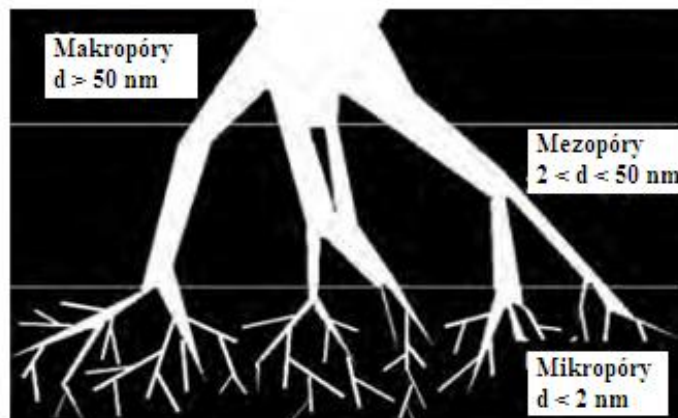
2.2.2 Strukturní a porézní vlastnosti

Vnitřní porozita (poměr objemu pórů k celkovému objemu pevné látky) a specifický povrch (plocha povrchu pevné látky vztažená na jednotku hmotnosti [$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$]) jsou obecně považovány za hlavní fyzikální vlastnosti, které charakterizují AU (Lastoskie a kol., 1993a, b; Kaneko, 1994; Pelekani a Snoeyink, 2001). Schématická struktura AU je zobrazena na Obr. 2. Jejím základem jsou grafitové lamely malých rozměrů, které se rozpadají a mají mnoho strukturních defektů. Jejich propojením vzniká trojrozměrná síť s mezerami, které utváří charakteristickou porozitu jednotlivých adsorbentů. Adsorbenty se stejnou hodnotou porozity mohou mít za stejných podmínek odlišné adsorpční vlastnosti, protože ty jsou dány i velikostí a geometrií jednotlivých pórů (Zdravkov a kol., 2008).

V literatuře existují různé systémy třídění velikosti pórů, které se navzájem značně odlišují a v některých případech si i odporují (Kodikara a kol., 1999; Zdravkov a kol., 2008). Pro sjednocení charakterizace byla vytvořena klasifikace podle Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii (IUPAC, International Union for Pure and Applied Chemistry), která dělí póry podle mechanismů při izotermní adsorpci dusíku (teplota 77,4 K a tlak 101,325 kPa). Základní kategorie pórů jsou shrnuty v Tab. 1 a jejich struktura schematicky znázorněna na Obr. 3.



Obr. 2 Schématická struktura AU (převzato z: Rodriguez-Reinoso a Molina-Sabio, 1998).



Obr. 3 Schématická struktura pórů AU (d je průměr [nm]) (převzato z Menendez-Diaz a Martin-Gullon, 2006).

Tab. 1 Rozdělení pórů na základě jejich velikosti (IUPAC, 1972).

	Makropóry	Mezopóry	Mikropóry		
			supermikropóry	ultramikropóry	submikropóry
Průměr [nm]	> 50	2 – 50	2 – 0,8	0,8 – 0,4	< 0,4

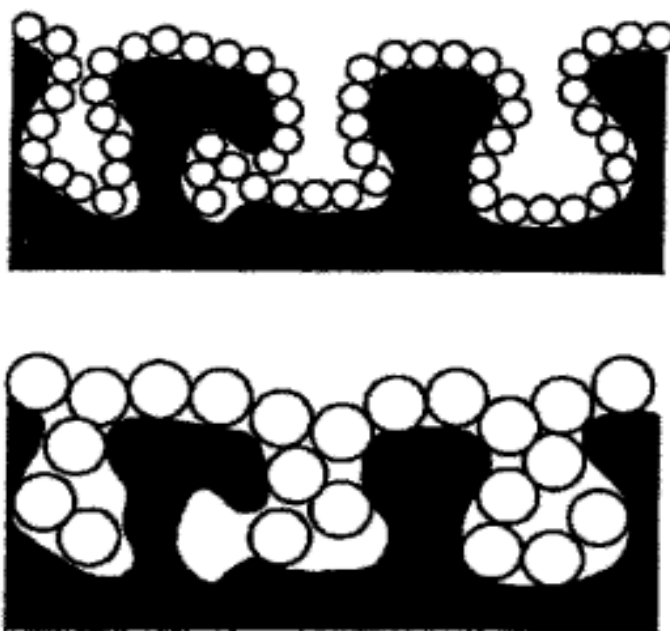
Na základě dostupnosti pro molekuly a ionty se póry dělí na uzavřené a otevřené (Zdravkov a kol., 2008). Z hlediska geometrie pak mohou mít různý tvar, například štěrbínový, kónický, válcovitý, se zúženým hrdlem aj. (Kaneko, 1994; Marsh a Rodriguez-Reinoso, 2006).

Velikostní distribuce pórů (PSD, Pore Size Distribution), která charakterizuje rozdělení objemu pórů dle jejich velikosti, má přímý vliv na adsorpci (Pelekani a Snoeyink, 1999). U jednotlivých AU se PSD může lišit zejména v závislosti na výrobním procesu (typ prekurzoru, aktivačního procesu i činidla) (Newcombe a kol., 2002; Mui a kol., 2010).

Při adsorpci látek na AU je důležité zvolit vhodný typ uhlí se správným zastoupením pórů v závislosti na velikosti adsorbované látky (Obr. 4). Z hlediska velikosti adsorbovaných molekul poskytují mikropóry s průměrem < 2 nm (představující 90 – 95 % plochy povrchu AU) největší adsorpční kapacitu zejména pro látky s malou molekulovou hmotností, například mikropolutanty či plyny (Sakoda a kol., 1987; Sontheimer a kol., 1988; Salame a Bandosz, 2003;

Dastgheib a kol., 2004; Karanfil a Dastgheib, 2004). Naopak mezopóry (průměr 2 – 50 nm) jsou důležité pro adsorpci větších molekul, například NOM (Bjelopavlic a kol., 1999; Moreno-Castilla, 2004). Vzhledem k tomu, že řada NOM huminového charakteru má velikost v rozmezí od 0,5 – 5 nm, je nejvhodnější pro jejich odstranění AU s vyšším zastoupením mikropórů a mezopórů (Newcombe a kol., 1997; Li a kol., 2003; Dastgheib a kol., 2004). Většina studií zabývajících se adsorpcí samotných AOM je zaměřena především na odstraňování microcystinu (Donati a kol., 1994; Pendleton a kol., 2001; Cook a Newcombe, 2002; Campinas a Rosa, 2006; Huang a kol., 2007; Ho a kol., 2011). Vzhledem k tomu, že tento heptapeptid má velikost molekul v rozmezí 1,2 – 2,6 nm, je pro jeho adsorpci nejvhodnější AU s vyšším objemem supermikropórů (0,8 – 2 nm) a mezopórů (Donati a kol., 1994; Pendleton a kol., 2001; Huang a kol., 2007).

Makropóry (průměr > 50 nm) k samotné adsorpci nepřispívají, umožňují pouze průchod adsorbované látky do vnitřního prostoru k mikropórům. Spolu s mezopóry tvoří tzv. transportní póry (Rodriguez-Reinoso a Molina-Sabio, 1998).



Obr. 4 Adsorpce molekul adsorbátu různé velikosti (převzato z: Inagaki a Tascon, 2006).

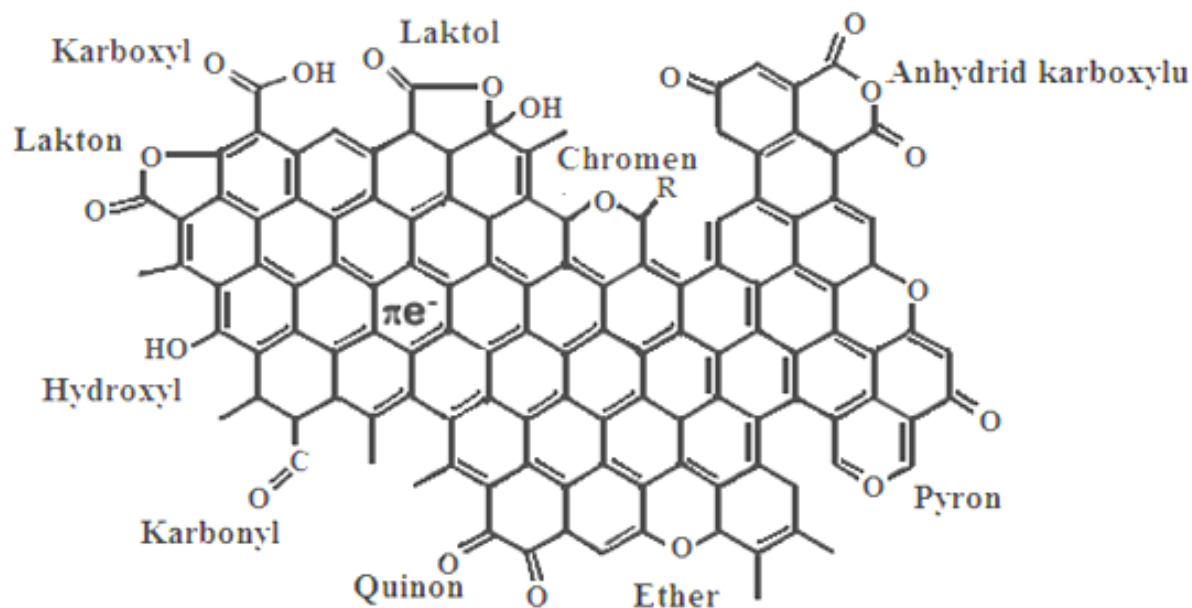
2.2.3 Chemismus povrchu

Chemismus povrchu AU má přímý vliv na elektrostatické a neelektrostatické interakce, které při adsorpci probíhají mezi adsorbentem a adsorbátem (Bjelopavlic a kol., 1999; Moreno-Castilla, 2004). Povrch AU kromě atomů C obsahuje i velké množství heteroatomů (např. O, N, S aj.). Zejména na okrajích bazálních vrstev AU se na těchto heteroatomech vytváří různé povrchové funkční skupiny, které následně ovlivňují náboj, hydrofobnost a interakce AU (Boehm, 1994; Leon a Radovic, 1994; Radovic a kol., 2000; Moreno-Castilla, 2004). Charakter a množství povrchových funkčních skupin se může lišit v závislosti na podmínkách výroby AU, k běžným typům ale patří skupiny kyslíkaté, vodíkové a dusíkové. Charakterizací a identifikací těchto skupin se zabývá řada studií (Biniak a kol., 1997; Boehm, 2002; Shen a kol., 2008). Některé se zaměřují na úpravu uhlí s cílem modifikovat stávající funkční skupiny nebo vytvořit na povrchu nové a zlepšit tak praktické aplikace AU (Shim a kol., 2001; Szymanski a kol., 2002; Centeno a Stoeckli, 2006; Yin a kol., 2007; Shen a kol., 2008).

Nejprozkoumanější a nejčastější jsou kyslíkaté funkční skupiny, které zároveň nejvíce ovlivňují povrchové charakteristiky a adsorpční chování AU (Leon a Radovic, 1994; Boehm 1994, 2002). Kyslíkaté skupiny vznikají při reakci AU s oxidačními plyny (ozón, oxid dusný, oxid uhličitý) a roztoky (kyselina dusičná či peroxid vodíku). V menší míře se mohou tvořit i spontánně při kontaktu AU se vzduchem. Množství kyslíku, který se váže na povrch AU při pokojové teplotě, je ale velmi nízké (Bandosz a kol., 1993; Boehm, 1994). Kyslíkaté funkční skupiny mohou být jak zásadité, tak kyselé a povrch AU díky nim má amfoterní charakter. Podle reakce ve vodném roztoku lze pak i samotné AU dělit na kyselé či zásadité. Pro zásadité uhlí je charakteristická nízká hustota kyslíkatých skupin, hydrofobnost a silná schopnost adsorbovat kyseliny. Naproti tomu kyselé uhlí má vyšší hustotu těchto skupin, je hydrofilní a adsorbuje přednostně zásady. Celková kyselost nebo zásaditost daného uhlí však nezávisí jen na přítomnosti těchto skupin, ale i na jejich koncentraci a síle. Obecně platí, že kyselost uhlí se s obsahem kyslíku zvyšuje (Leon a Radovic, 1994).

Kyslíkaté skupiny vyskytující se na povrchu AU jsou znázorněny na Obr. 5. Mezi funkční skupiny ovlivňující kyselý charakter AU patří například karboxylová, hydroxylová, laktonová, fenolová a laktolová skupina. Zásaditý charakter uhlí naopak udělují chromeny, diketony, quinony a pyrony (Leon a Radovic, 1994; Contescu a kol., 1998; Boehm, 2002). Původ bazicity povrchu AU je stále předmětem výzkumu, protože zřejmě není dán pouze přítomností

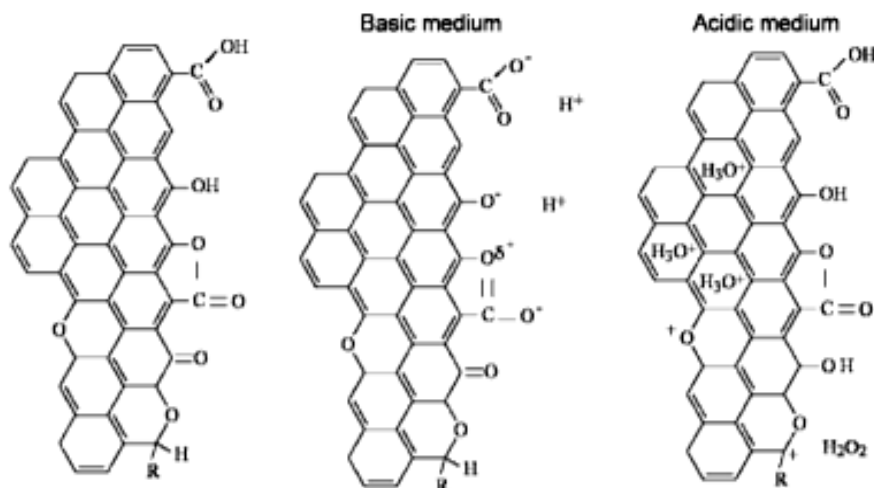
těchto skupin. Podle Montes-Moran a kol. (1998, 2004) k ní přispívají i oblasti s vysokou hustotou delokalizovaných π -elektronů.



Obr. 5 Kyslíkaté funkční skupiny vyskytující se na povrchu AU (převzato z: Bandosz a Ania, 2006).

2.2.4 Povrchový náboj

V závislosti na hodnotě pH a iontové síle roztoku vzniká na povrchu AU náboj disociací funkčních skupin nebo adsorpcí iontů (Moreno-Castilla, 2004). Za určitých podmínek se celkový náboj AU jeví jako nulový, protože počet kladně a záporně nabitých míst na jeho povrchu je vyrovnaný. Tento bod je označován jako pH nulového bodu náboje (pH_{nbn}). Zásaditá uhlí mají obecně hodnoty $\text{pH}_{nbn} > 7$, kyselá naopak $\text{pH}_{nbn} < 7$. Pokud je pH roztoku větší než pH_{nbn} , kyselé funkční skupiny uvolňují protony do roztoku a udělují tak povrchu uhlí záporný náboj. Pokud je pH nižší než pH_{nbn} , bazická místa AU protony z roztoku naopak přijímají a kladný náboj na povrchu uhlí roste (Moreno-Castilla, 2004). Schematicky je disociace a protonizace povrchu AU znázorněna na Obr. 6. Vliv pH roztoku bude podrobněji popsán v kapitole 2.4.



Obr. 6 Chování kyselých a zásaditých kyslíkatých funkčních skupin a delokalizovaných π -elektronů v roztoku (převzato z: Menendez-Diaz a Martin-Gullon, 2006).

2.3 Přírodní organické látky

Přírodní organické látky (NOM) se nacházejí v různých koncentracích ve všech přirozených vodních zdrojích. Jde o směs sloučenin, které se v prostředí vytvořily především z rozpadu rostlinného a živočišného materiálu. Konkrétní složení této směsi velice závisí na jejím zdroji (Summers a Roberts, 1988; Aiken a Cotsaris, 1995). Dominantní složkou NOM jsou látky huminového charakteru, zejména huminové kyseliny a fulvokyseliny s relativně velkou molekulovou hmotností ($500 - 30000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) a alifatickým i aromatickým charakterem (Choudry, 1984; Park a kol., 2006). Kromě těchto látek ale NOM zahrnují i látky produkované fytoplanktonem, tzv. AOM (Algal Organic Matter) (Her a kol., 2004; Henderson a kol., 2008).

2.3.1 Organické látky produkované fytoplanktonem

Organické látky produkované fytoplanktonem (AOM) jsou do vody uvolňovány různými druhy sinic, řas i rozsivek, mezi které patří například *Microcystis aeruginosa*, *Chlorella vulgaris*, *Asterionella formosa* nebo *Melosira* (Henderson a kol., 2008). AOM produkované těmito organismy lze obecně rozdělit na extracelulární látky (EOM, Extracellular Organic Matter), které vznikají metabolickou exkrecí, a celulární organické látky (COM, Cellular Organic Matter) pocházející z rozpadu buněk (Takaara a kol., 2007). Detailní charakterizace AOM z hlediska

původu a složení je velice důležitá při jejich odstraňování během procesu úpravy pitné vody, protože mohou obsahovat celou řadu různých sloučenin. Patří k nim zejména proteiny, peptidy, polysacharidy, oligosacharidy, monosacharidy, lipidy, nukleové kyseliny, aminokyseliny a jiné organické kyseliny (Leenheer a Croue, 2003; Her a kol., 2004). Z hlediska obsahu je však za hlavní složku AOM možno považovat zejména proteinové a neproteinové látky (Fogg, 1983; Her a kol., 2004; Pivokonský a kol., 2009; Henderson a kol., 2008, 2010), jejichž MH a koncentrace závisí na druhu sinic a jejich stáří (Henderson a kol., 2008). Zastoupení proteinů a neproteinů v EOM a COM se od sebe liší. Pivokonský a kol. (2006) ve své studii zjistili, že například COM produkované sinicí *M. aeruginosa* obsahují 59,9 % proteinových složek a 40,1 % složek neproteinových (převážně sacharidy a polysacharidy). Podíl COM se navíc zvyšuje se stárnutím organismů. V EOM naopak dominují hlavně polysacharidy, oligosacharidy a monosacharidy. Z hlediska molekulových hmotností bylo zjištěno, že 55 % AOM produkovaných sinicí *M. aeruginosa* je větších než 30 kDa, 7 % má velikost od 1 kDa do 30 kDa a 38 % je menší než 1 kDa (0,1 μ m odpovídá přibližně 20000 kDa) (Henderson a kol., 2008).

2.3.2 Nežádoucí účinky AOM

Obsah NOM i AOM ve vodě ve zvýšených koncentracích negativně ovlivňuje proces úpravy pitné vody. V případě AOM jejich nežádoucí účinek spočívá nejen v tom, že jsou samy o sobě obtížně odstranitelné, ale navíc velmi komplikují efektivní odstranění jiných nežádoucích příměsí (zákalotvorné částice, pesticidy aj.) (Pivokonský a kol., 2006; Hnaťuková a kol., 2011). Díky jejich přítomnosti v upravované vodě je často nutné zvyšovat dávku koagulačních činidel a oxidantů, přispívají k zanášení membrán a při nedostatečném odstranění mohou působit jako prekursor pro vznik vedlejších produktů desinfekce (Bernhardt a kol., 1985; Hoyer a kol., 1987). Co nejefektivnější odstranění AOM patří k základním problémům, které se řeší během procesu úpravy vod již řadu let (Bernhardt a kol., 1985; Hoyer a kol., 1987; Takaara a kol., 2005, 2007; Pivokonský a kol., 2006). V posledních letech se do popředí vědeckého zájmu z tohoto hlediska dostala zejména sinice *Microcystis aeruginosa*, která patří mezi nejhojnější druh sinic způsobujících tvorbu vodního květu ve vodárenských nádržích (Landsberg, 2002; Oberholster a kol., 2004). Výsledky řady studií prokázaly, že zejména COM této sinice jsou při konvenční úpravě pitné vody odstranitelné velmi obtížně (Pivokonský a kol., 2006, 2009). Tyto látky se ve

vodních zdrojích objevují zejména v letních měsících, kdy dochází k masivnímu udumírání vodního květu. Při rozpadu odumřelých buněk sinic se pak COM uvolňují do celého vodního sloupce prakticky naráz a to ve velmi vysokých koncentracích (Henderson a kol., 2008). Jako problematické se z hlediska jejich odstranění jeví i odlišné chemické složení v porovnání s EOM či jinými NOM (Takaara a kol., 2005, 2007; Pivokonský a kol., 2006). Studie Pivokonského a kol. (2006, 2009, 2012) prokázaly, že upravitelnost vody je negativně ovlivněna především proteinovou složkou s nízkou molekulovou hmotností (peptidy), která je na rozdíl od vysokomolekulových látek odstranitelná velmi obtížně. Po destabilizaci a následné agregaci s použitím železitého koagulantu v upravované vodě zůstávají zejména nízkomolekulární COM peptidy s MH 1; 2,8; 4,5; 5,5; 6; 8; 8,5 a 10 kDa. Proteiny s MH > 10 kDa se naopak podařilo z roztoku kompletně odstranit.

Kromě výše zmíněných obtíží jsou AOM problematické i díky obsahu řady toxických látek. Nejméně třetina z 50 známých rodů sinic je schopna produkovat toxiny (Newcombe a kol., 2003). Tyto látky vznikají jako sekundární metabolity a mnohdy mají velice škodlivé účinky na lidské zdraví. Rozdělují se podle působení toxicity do jednotlivých tříd na hepatotoxiny, neurotoxiny, cytotoxiny a endotoxiny. K nejčastěji se vyskytující třídě sinicových toxinů, které je možno identifikovat také ve vodárenských nádržích, patří skupina mikrocystinů (např. mikrocystin-LR, -YR, -RR, -AR) produkovaných mimo jiné sinicí *M. aeruginosa* (Landsberg, 2002; Gupta a kol., 2003; Oberholster a kol., 2004). Jedná se o cyklické oligopeptidy s hepatotoxickým působením (Codd, 2000; Pendleton a kol., 2001) a velikostí molekul v rozmezí 1,2 až 2,6 nm (Donati a kol., 1994; Pendleton a kol., 2001). Světová zdravotnická organizace navrhla pro mikrocystiny v pitné vodě směrnou hodnotu $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (WHO, 1998).

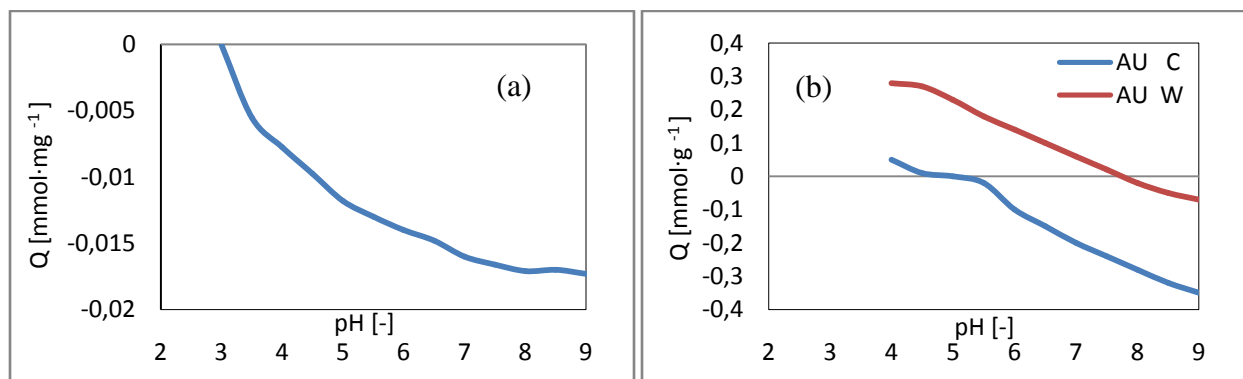
2.4 Chemismus roztoku

Kromě vlastností AU a adsorbovaných NOM a AOM ovlivňují adsorpční proces i vlastnosti roztoku, zejména jeho pH a iontová síla (Randtke a Jepsen, 1982; Newcombe a Drikas, 1997; Karanfil a kol., 1998; Bjelopavlic a kol., 1999; Campinas a Rosa, 2006). Obě tyto vlastnosti se při procesu úpravy pitné vody mohou měnit v závislosti na přídavku různých činidel a tak lze hodnoty pH a iontové síly upravit tak, aby adsorpční účinnost byla co nejvyšší.

2.4.1 Vliv pH

Hodnota pH roztoku je klíčový faktor, který řídí adsorpci řady látek na AU. Jedná se zejména o látky se schopností ve vodném roztoku disociovat. pH roztoku pak určuje povrchový náboj adsorbentu i adsorbovaných látek a tím přitažlivé a odpudivé síly mezi nimi (Newcombe, 2006). Během konvenčního procesu úpravy pitné vody se pH upravované vody dá měnit a je tak možno probíhající adsorpční interakce přímo ovlivňovat (Moreno-Castilla, 2004).

Je známo, že jak AU, tak i NOM obsahují různé funkční skupiny, které ionizací získávají charakteristiku aniontu či kationtu (Li a kol., 2003; Moreno-Castilla, 2004). V závislosti na hodnotě pH_{nbn} a disociačních konstant (pK_a) funkčních skupin se povrchový náboj u různých typů AU i druhů NOM liší. Může se z celkového hlediska jevit jako neutrální, kladný i záporný a může mít i různou sílu. Na Obr. 7 je pro ilustraci znázorněn náboj NOM (a) a dvou různých druhů AU (b), které ve své studii charakterizovali Newcombe a Drikas (1997). Na povrchu molekul NOM převažuje ve studovaném rozsahu pH 3 – 9 záporný náboj díky karboxylovým a fenolovým funkčním skupinám s kyselým charakter. Nejvyšších hodnot záporný náboj dosahuje v oblasti neutrálního až alkalického pH, kde je většina karboxylových skupin ionizována (Perdue, 1984; Summer a Roberts, 1988; Bjelopavlic a kol., 1999). Náboj obou studovaných uhlí se od sebe v závislosti na pH výrazně liší a ukazuje tak na rozdíly v chemickém složení obou adsorbentů. Uhlí W, které bylo vyrobeno z černého uhlí a aktivováno vodní parou, nese na svém povrchu převažující kladný náboj při $pH < 7,5$. Při vyšších hodnotách pH se jeho náboj naopak jeví jako záporný. Uhlí C bylo vyrobeno ze dřeva a aktivováno chemicky. Z jeho nábojové charakterizace je velmi dobře patrné, že na povrchu výrazně převažuje záporný náboj a to prakticky v celém rozsahu pH.



Obr. 7 Charakter povrchového náboje NOM (a) a 2 typů AU (b) v závislosti na pH roztoku (převzato a upraveno z: Newcombe a Drikas, 1997; Bjelopavlic a kol., 1999).

V podmínkách, které jsou typické pro úpravy vod, hrají v závislosti na nábojových poměrech v systému významnou roli elektrostatické interakce mezi povrchem uhlí a adsorbovanými molekulami (Newcombe a Drikas, 1997; Newcombe a kol., 2002). Pro zvýšení adsorpce je tak vhodné minimalizovat elektrostatické odpuzivé síly mezi NOM a povrchem uhlí použitím adsorbentu s opačným nábojem (Bjelopavlic a kol., 1999). Jiné studie ukazují, že tyto interakce mohou být minimalizovány snížením pH na hodnotu, kde je záporný náboj NOM nepatrný. Optimální pokles pH pak může mít za následek zvýšení adsorpce NOM na AU (Newcombe a Drikas, 1997; Karanfil a kol., 1998; Bjelopavlic a kol., 1999; Li a kol., 2003). Kladný náboj na povrchu AU může naopak vést k přitažlivým interakcím se záporně nabitými molekulami a adsorpci posílit (Newcombe a Drikas, 1997).

Kromě elektrostatických interakcí se na adsorpci podílí i různé síly specifické (neelektrostatické), jako například hydrofobní interakce, van der Waalsovy síly, π - π disperzní interakce nebo tvorba vodíkových můstků (Bjelopavlic a kol., 1999; Yoon a kol., 1999). Je-li tento typ interakcí při adsorpci dominantní, pak je účinnost AU ovlivněna spíše jeho strukturními vlastnostmi (porozita, specifický povrch) a molekulovou hmotností adsorbátu, než nábojovými poměry v systému (Moreno-Castilla, 2004).

Obdobný princip lze zřejmě aplikovat i při odstraňování AOM. Situace je ale komplikovanější díky odlišnému chemickému složení a obsahu některých dalších typů funkčních skupin, kromě —COOH a —OH ještě například —SH a —NH_2 (Chang, 2005). Problém je o to složitější, že existuje jen velmi malé množství odborné literatury zabývající se přímo adsorpcí organických látek produkovaných fytoplanktonem na AU (Hnat'uková a kol., 2011). Stejně tak existuje jen několik studií zabývajících se nábojovou charakterizací podobných látek. Jejich výsledky jsou navíc nejednotné. Podle studie Henderson a kol. (2008) mohou být AOM v rozpětí hodnot pH 2 – 10 nabity záporně díky převaze kyselých karboxylových funkčních skupin. Nicméně výsledky jiných studií prokázaly, že tomu tak vždy být nemusí. Pivokonský a kol. (2012) své studii zjistili, že náboj na povrchu COM peptidů se může měnit v závislosti na hodnotě pH. Při $\text{pH} < 5,5$ převažuje kladný náboj, při $\text{pH} 5,5 - 7,5$ jsou kyselé funkční skupiny deprotonizované a převažuje záporný náboj stejně jako při $\text{pH} > 7,5$. Další studie ukazují, že některé metabolity sinic, například cylindrospermopsin a microcystin-RR mají při pH 6,5 – 8 neutrální náboj, zatímco jiné druhy microcystinu (—YR , —LR , —LA) mají náboj záporný

(Huang a kol., 2007; Ho a kol., 2011). Je zřejmé, že velmi záleží na konkrétním typu adsorbované látky, organismu, který ji produkuje, a metodě její nábojové charakterizace.

2.4.2 Vliv iontové síly

Kromě pH roztoku ovlivňuje adsorpci na AU i jeho iontová síla (IS), která charakterizuje celkovou koncentraci náboje jednotlivých typů iontů v roztoku (Pitter, 1999). Během procesu úpravy vod se iontová síla zvyšuje přidáváním různých činidel (koagulační, oxidační, chlorační, pro úpravu pH aj.). Studium vlivu IS na adsorpci NOM na AU byla věnována řada prací, jejichž výsledky potvrdily významné zvýšení adsorpce NOM na AU při zvýšení IS roztoku (McCreary a Snoeyink, 1980; Randtke a Jepsen, 1982; Summers a Roberts, 1988; Karanfil a kol., 1998; Campinas a Rosa, 2006). Iontová síla totiž přímo ovlivňuje elektrostatické interakce odehrávající se mezi adsorbovanou látkou a AU. V případě odpuzivých elektrostatických interakcí dochází vlivem zvýšené IS roztoku k jejich omezení (Newcombe a Drikas, 1997; Bjelopavlic a kol., 1999; Moreno-Castilla, 2004; Campinas a Rosa, 2006). Kromě velikosti IS závisí její vliv i na dalších parametrech. Jedná se zejména o povrchovou koncentraci adsorbátu (Newcombe a Drikas, 1997; Bjelopavlic, 1999) a jeho molekulovou hmotnost (Kilduff a kol., 1996; Pelekani a Snoeyink, 1999). V závislosti na nich ve své studii Van de Steeg a kol. (1992) identifikoval existenci dvou oblastí s odlišným adsorpčním režimem: oblast snížené adsorpce odstíněním (adsorption screening reduced regime) a oblast zvýšené adsorpce odstíněním (adsorption screening enhanced regime). Pokud mezi AU a NOM převládají přitažlivé elektrostatické interakce a povrchová koncentrace je nízká, lze očekávat, že zvýšením IS roztoku dojde k poklesu adsorpce. Přidané ionty soli totiž odstíní některé přitažlivé interakce a adsorpce klesne. Při vyšší povrchové koncentraci adsorbátu jsou molekuly NOM velmi blízko sebe a převládají mezi nimi odpuzivé elektrostatické interakce. Adsorpce je v tomto případě řízena zejména neelektrostatickými silami mezi povrchem uhlí a NOM (hydrofobní a π - π interakce). Zvýšení IS za těchto podmínek vede ke zvýšení adsorpce, protože přidané ionty soli část odpuzivých sil mezi NOM odstíní. Totožné výsledky ve svých studiích potvrdili i Randtke a Jepsen (1982), La France a Mazet (1989) nebo Schlautman a Morgan (1994). V některých studiích bylo navíc prokázáno, že s růstem povrchové koncentrace může dojít k přepnutí mezi oběma režimy. Na adsorpčních izotermách se v tom případě objeví překřížení, tzv. crossover point, který

charakterizuje změnu režimu z omezení adsorpce na její posílení (Newcombe a Drikas, 1997; Bjelopavlic, 1999). K této změně obvykle dochází tam, kde se opačné náboje adsorbovaných NOM a povrchu AU vyrovnají (Newcombe a Drikas, 1997).

3 MATERIÁLY A METODIKA

3.1 Charakterizace adsorbentů

Pro adsorpční experimenty byly vybrány dva druhy komerčně dostupného granulovaného aktivního uhlí (GAU): Filtrasorb TL 830 (Chemviron Carbon, USA) a Picabiol 12x40 (Pica Carbon, Francie). GAU Filtrasorb TL 830 (FTL) je vyrobeno z černého uhlí a aktivováno vodní parou. Je vhodné nejen k odstraňování mikropolutantů (např. pesticidů), ale vzhledem k velkému počtu transportních pórů vykazuje vysokou adsorpční kapacitu i pro NOM. GAU Picabiol 12x40 (PIC) je naopak vyrobeno vysokoúčinnou aktivací rostlinného materiálu. Díky charakteru výchozího materiálu má dvakrát větší objem pórů než většina běžně užívaných vodárenských AU. Toto uhlí je vhodné jak pro odstraňování antropogenních organických látek, tak i NOM.

Před adsorpčními experimenty byla obě GAU nejprve přesítována, a tak byla získána velikostní frakce zrn 0,8 – 1 mm. Následně byly adsorbenty 8 hodin promývány destilovanou vodou v Soxhletově extrakční aparatuře a poté důkladně vysušeny při 110 °C po dobu 24 hod. Před experimenty byla obě GAU uložena v exsikátoru.

3.1.1 Analýza strukturních vlastností

Strukturní vlastnosti GAU jako specifický povrch BET (S_{BET}), celkový objem pórů (V_{total}), objem mikropórů (V_{mikro}), povrch mezopórů (S_{mezo}) a mikroporozita (V_{mikro}/V_{total}) byly vyhodnoceny na základě fyzikální adsorpce N_2 při 77 K pomocí volumetrického přístroje ASAP2020 (Micromeritics, USA) na Ústavu chemických procesů AV ČR, v. v. i. Před provedením analýzy byly vzorky uhlí nejprve vysušeny při teplotě 105° C a tlaku 0,1 Pa po dobu 24 h. Specifický povrch adsorbentů byl vypočten pomocí standardní BET metody (Brunauer a kol., 1938), objem mikropórů a povrch mezopórů byly vyhodnoceny s použitím t-plot metody a Lecloux-Pirard master izotermy (Lecloux a Pirard, 1979). Mikroporozita vzorků byla vyjádřena jako procentuální poměr objemu mikropórů k celkovému objemu všech pórů obsažených v GAU.

3.1.2 Stanovení povrchového náboje

Povrchový náboj GAU byl stanoven potenciometrickou titrací podle metodiky detailně popsané v literatuře (Alvarez-Merino a kol., 2008). Připravená suspenze 0,1 g GAU ve 400 ml 0,01 M NaCl byla nejprve ponechána po dobu 48 hodin při konstantní teplotě 25 °C k ustálení rovnováhy a následně titrována roztokem 0,1 M HCl do hodnoty pH 3 a roztokem 0,1 M NaOH do hodnoty pH 11. Titrační činidla byla přidávána po 0,01 ml přidavcích pomocí automatické byrety (Bürette Automatic III, Brand, SRN) v intervalu 180 s mezi jednotlivými titračními kroky. Ustalování suspenze i samotná titrace byly provedeny v N₂ atmosféře k eliminaci vlivu vzdušného CO₂. Za stejných podmínek byla provedena i slepá titrace. Rovnováha bilance protonů byla vypočtena z následující rovnice po odečtení spotřeb titračních činidel pro slepý vzorek a vzorek s GAU:

$$Q = 1/mS_{BET} * [V_0\{[H^+]_i - [OH^-]_i\} + V_t N_t - (V_0 + V_t)\{[H^+]_f - [OH^-]_f\}] \quad (5)$$

Q – povrchový náboj [$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$]

m – hmotnost vzorku [g]

S_{BET} – specifický povrch [$\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$]

V_0 – počáteční objem roztoku [l]

V_t – objem přidaného titračního činidla [l]

N_t – normalita titračního činidla [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]

$[H^+]_i$ a $[H^+]_f$ – počáteční (initial) a konečná (final) koncentrace H^+ [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]

$[OH^-]_i$ a $[OH^-]_f$ – počáteční (initial) a konečná (final) koncentrace OH^- [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]

Záporné hodnoty Q indikují přítomnost kyselých povrchových skupin, kladné hodnoty Q naopak přítomnost zásaditých povrchových skupin. Hodnota pH, při které je náboj Q nulový, značí nulový bod náboje GAU (pH_{nbn}).

3.2 Charakterizace adsorbátu

3.2.1 Kultivace a příprava vzorku COM

Laboratorní druh sinice *Microcystis aeruginosa*, Kuetzing (ZAPOMELOVA 2006/2) byl získán ze Sbírkky autotrofních organismů Botanického ústavu AV ČR, v. v. i. Sinice byla kultivována dle metodiky detailně popsané v literatuře (Pivokonský a kol., 2006).

Buňky sinic byly z živného média odebírány vždy 16. den kultivace během stacionární fáze růstu. Následně byly smíchány s 200 ml demineralizované vody a celulární podíl organických látek (COM) z nich byl získán jejich destrukcí ultrazvukovým homogenizérem (UP200S, Hielscher Ultrasound Technology, Německo) po dobu 5 minut (240 W). Po té byl vzorek COM přefiltrován přes membránový filtr 0,22 µm (Millipore, USA), aby byly odstraněny všechny pevné zbytky buněk. Výsledný filtrát byl následně zahuštěn na rotační vakuové odparce při teplotě 25 °C (Laborota 4000 HB/G1, Německo). Takto koncentrované vzorky COM byly do samotných experimentů uchovávány při teplotě -18 °C.

3.2.2 Izolace a stanovení podílu proteinů/peptidů

Pomocí dvoustupňového srážení síranem amonným při 0 °C byly ze vzorku COM izolovány proteinové látky. Výsledná sraženina byla poté od neproteinových složek (zejména sacharidy a polysacharidy) separována pomocí 0,22 µm membránového filtru (Millipore, USA) a rozpuštěna v 200 ml demineralizované vody. Obsah proteinových látek ve vzorku COM byl vyjádřen jako rozpuštěný organický uhlík (DOC_P) a odpovídal rozdílu celkového rozpuštěného organického uhlíku (DOC_T) a rozpuštěného organického uhlíku neproteinových látek (DOC_{NP}), který lze vypočítat následující rovnicí (Pivokonský a kol., 2006):

$$DOC_P = DOC_T - DOC_{NP} \quad (6)$$

Nízkomolekulární peptidy, které byly následně používány jako cílový adsorbát ve všech adsorpčních testech, byly z proteinového podílu COM vyizolovány v míchané ultrafiltrační cele (Millipore, USA) pomocí membránového filtru PLAC 10 000 Da (Millipore, USA). Zbytky srážedla byly ze vzorků rozpuštěných peptidů odstraněny stejnou aparaturou s pomocí filtru

PLAC 1000 Da (Millipore, USA). Filtrační cela byla promíchávána rychlostí 60 ot·min⁻¹ za stálého tlaku dusíkové atmosféry nad filtrovaným vzorkem 1 bar. Proces izolace peptidové a proteinové složky COM byl v průběhu práce prováděn opakovaně. Finální koncentrace DOC_P byly okolo 500 mg·l⁻¹ s chybou stanovení vždy do 5 %.

3.2.3 Stanovení koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC)

Koncentrace COM peptidů byla vyjadřována jako koncentrace rozpuštěného uhlíku (DOC, Dissolved Organic Carbon). Měření DOC bylo prováděno na analyzátoru organického uhlíku Shimadzu TOC-V_{CPH} (Shimadzu Corporation, Japonsko) po přefiltrování vzorků přes 0,22 µm membránový filtr (Millipore, USA). Pro měření byla použita diferenční metoda TC-IC, která je založena na vyjádření DOC z rozdílu celkového uhlíku (TC, Total Carbon) a anorganického uhlíku (IC, Inorganic Carbon). Měření všech vzorků bylo provedeno duplikátně s chybou měření menší než 2 %. Spolu s měřením vzorku byly pro kontrolu používány standardy TC a IC o koncentraci 5 mg·l⁻¹.

Přístroj byl kalibrován pomocí uhličitanu sodného a hydrogenuhličitanu sodného (IC standardy) a hydrogenftalátu (TC standard) v koncentračním rozsahu 1 – 30 mg·l⁻¹.

3.2.4 Zastoupení molekulových hmotností

Vzorek COM peptidů byl charakterizován z hlediska zastoupení molekulových hmotností na kapalinovém chromatografu (Agilent 1100 series, Agilent Technologies, USA) pomocí metody HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography). K rozdělení peptidů dle molekulových hmotností byly použity kolony Agilent Bio SEC-5 100 Å a 300 Å (7,8 x 300 mm, 5 µm) (Agilent Technologies, USA) zapojené v sérii. Detekce peptidů byla provedena pomocí detektoru diodového pole (DAD, Diode Array Detector) provozovaného při vlnové délce 280 nm, což je peptidy nejvíce adsorbovaná vlnová délka UV záření. Jako mobilní fáze byl použit 0,05 M roztok hydrogenfosforečnanu sodného (pH 7). Rychlost průtoku byla 1 ml·min⁻¹ při teplotě 23° C a objem nástřiku 60 µl. Data z analýz byla zpracována pomocí softwaru Agilent Technologies Chemstation (Agilent Technologies, USA).

Systém byl kalibrován pomocí následujících SEC standardů (Sigma-Aldrich, USA): albumin (66 kDa), alkohol dehydrogenasa (150 kDa), apoferritin (443 kDa), aprotinin (6,5 kDa),

karbonická anhydrasa (29 kDa), cyanokobalamin (1,35 kDa), cytochrom c (12,4 kDa), d-biotin (224 Da), thyroglobulin (670 kDa). K výpočtu MH byla použita semilogaritmická kalibrační křivka ($R^2 = 0,99$). Jako kontrolní vzorky byly použity ovalbumin (44 kDa) a γ -globulin (158 kDa) (BioRad Laboratories, USA). Standardní chyba měření byla $\pm 0,95$ kDa pro γ -globulin a $\pm 0,64$ kDa pro ovalbumin. Reprodukovatelnost MH frakcí COM peptidů byla velmi dobrá s odchylkou menší než 3 % při opakovaných měřeních.

3.2.5 Stanovení povrchového náboje

Povrchový náboj COM peptidů v závislosti na pH roztoku byl stanoven potenciometrickou titrací podle metodiky detailně popsané v literatuře (Bjelopavlic a kol., 1999; Šafaříková a kol., 2013). K měření byl použit automatický titrátor Orion 960 Autotitrator (Thermo Scientific, USA). Vzorek COM peptidů ($\text{DOC} = 600 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) byl připraven ve 200 ml 0,01 M NaCl a ponechán 30 min k ustálení pH při teplotě 25 °C. Po úpravě pH na 11 pomocí 1 M NaOH byl vzorek postupně titrován pomocí 0,1 M HCl až do pH 1,5. Titrační činidlo bylo přidáváno po jednotlivých přídavech 0,05 ml pomocí automatické byrety (Bürette Automatic III, Brand, SRN) v intervalu 180 s mezi jednotlivými přídávky. Ustalování pH i samotná titrace byly provedeny v dusíkové atmosféře, aby došlo k vyloučení vlivu vzdušného CO_2 . Za stejných podmínek byl titrován i slepý vzorek bez COM peptidů. Rozdíl v množství přidaných H^+ při titraci peptidů a slepého vzorku lze přičíst existenci různých funkčních skupin ve struktuře peptidů. Po vynesení tohoto rozdílu v závislosti na pH lze na titrační křivce identifikovat oblasti s minimální změnou pH s přídavkem H^+ , které představují disociační konstanty (pK) funkčních skupin. Oblasti maximální změny pH s přídavkem H^+ naopak představují body ekvivalence (pE), které indikují pH, kde vliv jedné funkční skupiny končí a jiné začíná (Chang, 2005).

3.2.6 Určení izoelektrických bodů

Izoelektrické body (pI) izolovaných COM peptidů byly stanoveny metodou izoelektrické fokusace (IEF) pomocí elektroforézního systému Multiphor II (Pharmacia, Švédsko) na Fakultě potravinářské a biochemické technologie VŠCHT Praha. Elektroforézní gel (7%) byl připraven z amfoterních elektrolytů o pI 2,5 – 5,0 a 3,5 – 10,0 (BioRad Laboratories, USA). Ke stanovení izoelektrických bodů byla použita standardní kalibrační křivka s proteinovou kalibrační sadou

v rozsahu pI 2,5 – 10,0 (BioRad Laboratories, USA). Jako barvicí roztok bylo použito 0,1% modré barvivo Coomassie (Briliant Blue R-258) (BioRad Laboratories, USA) v 45% metanolu a 15% kyselině octové. Jako odbarvovací roztok byl použit 40% metanol a 10% kyselina octová.

3.2.7 Analýza mikrocystinů

Analýza mikrocystinů, konkrétně suma mikrocystinu-LR, -RR a -YR, byla provedena na základě standardní metodiky popsané v EPA Method 1694 (U.S. EPA, 2007) a studii Herranz a kol. (2012). Mikrocystiny byly stanoveny ve vodných vzorcích pomocí vysokotlaké kapalinové chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (LC/MS/MS). Analýzy probíhaly v režimu pozitivní ionizace elektrosprejem (ESI+) s využitím systému Agilent 6410 Triple Quadrupole LC/MS/MS (Agilent Technologies, USA) a kolony Zorbax Eclipse XDB-C18 ($4,6 \times 100 \text{ mm} \times 3,5 \text{ } \mu\text{m}$) (Agilent Technologies, USA). K chromatografickému dělení byla využita gradientová eluce kombinující mobilní fázi A (voda) a mobilní fázi B (metanol), obě s obsahem 0,1% kyseliny mravenčí a 5mM mravenčnanu sodného, při průtoku $300 \text{ } \mu\text{l min}^{-1}$. Gradient byl následující: 3 – 30 % B po dobu 0,3 min, 30 – 35 % B po dobu 6 min a 35 – 95 % B po dobu 3 min. Koncentrace mikrocystinů byla vyhodnocena kombinací metody vnitřního standardu (isotopově značený Isoproturon D6; Sigma Aldrich, USA) a metody standardního přídávku. Mez stanovitelnosti metody byla $100 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$.

3.3 Rovnovážné adsorpční testy

Pro zjištění vlivu vlastností roztoku na adsorpci COM peptidů byly provedeny rovnovážné adsorpční testy při různé hodnotě pH a nízké a vysoké iontové síle (IS). Jednotlivé roztoky o objemu 250 ml a počáteční koncentraci COM $1 - 150 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ DOC byly připraveny rozředěním zásobního roztoku peptidů (DOC cca $500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) v demineralizované vodě s celkovou alkalitou upravenou na hodnotu $1,45 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (odpovídá hodnotě běžně dosahované v přírodních zdrojích vod) pomocí $0,125 \text{ M NaHCO}_3$. pH roztoků bylo upravováno na požadovanou hodnotu 5, 7 a 8 pomocí $0,1 \text{ M}$ a 2 M HCl a $0,1$ a 2 M NaOH . Do roztoků COM peptidů určených k testování vlivu IS byl dále dávkován chlorid sodný tak, aby byla zajištěna jeho finální koncentrace $0,01 \text{ M}$ (nízká IS) nebo $0,3 \text{ M}$ (vysoká IS). Vzorky uhlí PIC a FTL

(dávka 0,5 – 400 mg) byly poté přidány k testovacím roztokům a míchány v uzavřených borosilikátových lahvích (Simax, ČR) na magnetických míchadlech (200 rpm) po dobu 48 hodin a teplotě 25 °C. Pro zabránění biogenní degradace byl do všech vzorků přidáván azid sodný. Po dosažení adsorpční rovnováhy byly následně ze všechny roztoků odstraněny částice GAU filtrací přes 0,22 µm membránový filtr (Millipore, USA). Zbytková koncentrace COM peptidů po adsorpci byla měřena jako DOC pomocí analyzátoru Shimadzu TOC-V_{CPH} (Shimadzu Corporation, Japonsko). Zbytek vzorků byl 10x zakoncentrován na vakuové rotační odparce (Laborota 4002 control, Heidolph, Německo). Relativní MH zbytkových peptidů byly následně identifikovány pomocí HPSEC metody. Souběžně s testovacími roztoky COM peptidů byly míchány a analyzovány i slepé vzorky.

3.4 Kinetické testy

Adsorpce COM peptidů v závislosti na čase byla posuzována na základě kinetických adsorpčních testů při různém pH. Tyto testy byly prováděny s peptidy o počáteční koncentraci 10 mg·l⁻¹ a dávkou předem smočeného (24 hod) GAU FTL a PIC 400 mg·l⁻¹ ve 2 l borosilikátových uzavíratelných lahvích. Testovací roztoky byly připraveny rozředěním zásobního roztoku peptidů (DOC cca 500 mg·l⁻¹) na požadovanou koncentraci pomocí demineralizované vody s celkovou alkalitou upravenou pomocí 0,125 M NaHCO₃ na hodnotu 1,45 mmol·l⁻¹. pH roztoků bylo upraveno na požadovanou hodnotu 5, 7 a 8 pomocí 0,1 M a 2 M HCl a 0,1 M a 2 M NaOH. Jednotlivé roztoky byly míchány při konstantní teplotě 25 °C na magnetických míchadlech (200 rpm). Pro potlačení biologické aktivity byl ke všem vzorkům přidáván azid sodný. Koncentrace zbytkových COM peptidů měřená jako DOC byla analyzována v průběhu 48 hod v předem stanovených časových intervalech (0; 0,2; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 10; 24 a 48 hod). Současně se vzorky COM peptidů byly provedeny také kinetické testy se slepými vzorky.

3.5 Analýza dat

Rovnovážná povrchová koncentrace COM peptidů po adsorpčních testech popsaných v kapitole 3.3 byla vypočtena pomocí rovnice hmotnostní bilance:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (7)$$

q_e je povrchová koncentrace COM peptidů na GAU [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

C_0 je počáteční koncentrace COM peptidů v roztoku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

C_e je rovnovážná koncentrace COM peptidů v roztoku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

V je objem roztoku [l]

m je množství adsorbentu [mg]

Výsledná experimentální data byla dále proložena rovnovážným modelem Langmuirovy (1) a Freundlichovy izotermou (2), jejichž rovnice jsou detailně popsány v kapitole 2.1.5.

Povrchová koncentrace COM peptidů v průběhu kinetických testů popsaných v kapitole 3.4 byla vypočtena pomocí rovnice hmotnostní bilance:

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad (8)$$

q_t je povrchová koncentrace COM peptidů na GAU v čase t [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

C_0 je počáteční koncentrace COM peptidů v roztoku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

C_t je koncentrace COM peptidů v roztoku v čase t [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

V je objem roztoku [l]

m je množství adsorbentu [mg]

t čas odběru [hod]

Experimentální data z kinetických testů byla dále popsána pomocí kinetického modelu pseudo-prvního a pseudo-druhého řádu, které jsou vysvětleny v kapitole 2.1.6.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Základní charakteristika adsorbentů

4.1.1 Texturní vlastnosti

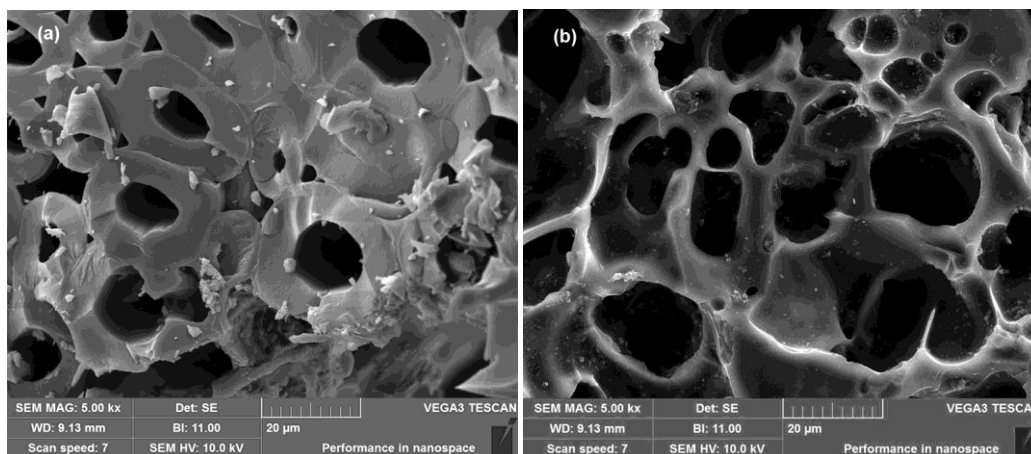
GAU FTL a PIC byla detailně zhodnocena z hlediska texturních povrchových vlastností na Ústavu chemických procesů, AV ČR, v. v. i. Výsledky stanovení specifického povrchu (S_{BET}), povrchu mezopórů (S_{mezo}), celkového objemu pórů (V_{total}), objemu mikropórů (V_{mikro}) a z nich vypočtené hodnoty mikroporozity (V_{mikro}/V_{total}) shrnuje Tab. 2. Vnější porézní struktura obou GAU s makropóry (průměr > 50 nm) je ilustrativně zobrazena na snímcích z elektronové skenovací mikroskopie (SEM) na Obr. 8. Makropóry se hlouběji ve vnitřní struktuře aktivního uhlí větví v mezopóry (průměr 2 – 50 nm) a mikropóry (průměr < 2 nm) (Newcombe, 2006), jak je detailně popsáno v kap. 2.2.2.

Tab. 2 Charakteristické vlastnosti GAU FTL a PIC

Obecné vlastnosti	FTL	PIC
Prekurzor	černé uhlí	rostlinný materiál
Aktivační činidlo	vodní pára	vodní pára
Forma	granulovaná	granulovaná
Texturní vlastnosti		
S_{BET} [m ² ·g ⁻¹]	1039	1667
S_{mezo} [m ² ·g ⁻¹]	421,2	769,6
V_{total} [cm ³ ·g ⁻¹]	0,63	1,20
V_{mikro} [cm ³ ·g ⁻¹]	0,30	0,45
$(V_{mikro}/V_{total}) \cdot 100$ [%]	48	37
Povrchový náboj		
pH _{nbn}	8,6	3,5

Je patrné, že GAU PIC disponuje výrazně větším S_{BET} i S_{mezo} a má téměř dvakrát větší celkový objem pórů v porovnání s druhým adsorbentem. Rozdíly v zastoupení V_{mikro} u obou adsorbentů byly naopak velmi malé – 0,45 cm³·g⁻¹ v případě PIC a 0,30 cm³·g⁻¹ pro FTL. Z hlediska mikroporozity naopak dosahoval vzorek FTL výrazně vyšší hodnoty (48 %) v porovnání s PIC (37 %). Rozdíly v texturních povrchových vlastnostech obou uhlí jsou závislé na použitém surovém materiálu (prekurzoru), ze kterého byla vyrobena. Černé uhlí použité

pro výrobu GAU FTL je tak příčinou jeho vyšší výsledné mikroporozity. Větší zastoupení mezopórů ve struktuře GAU PIC je naopak důsledkem karbonizace a aktivace rostlinného materiálu.



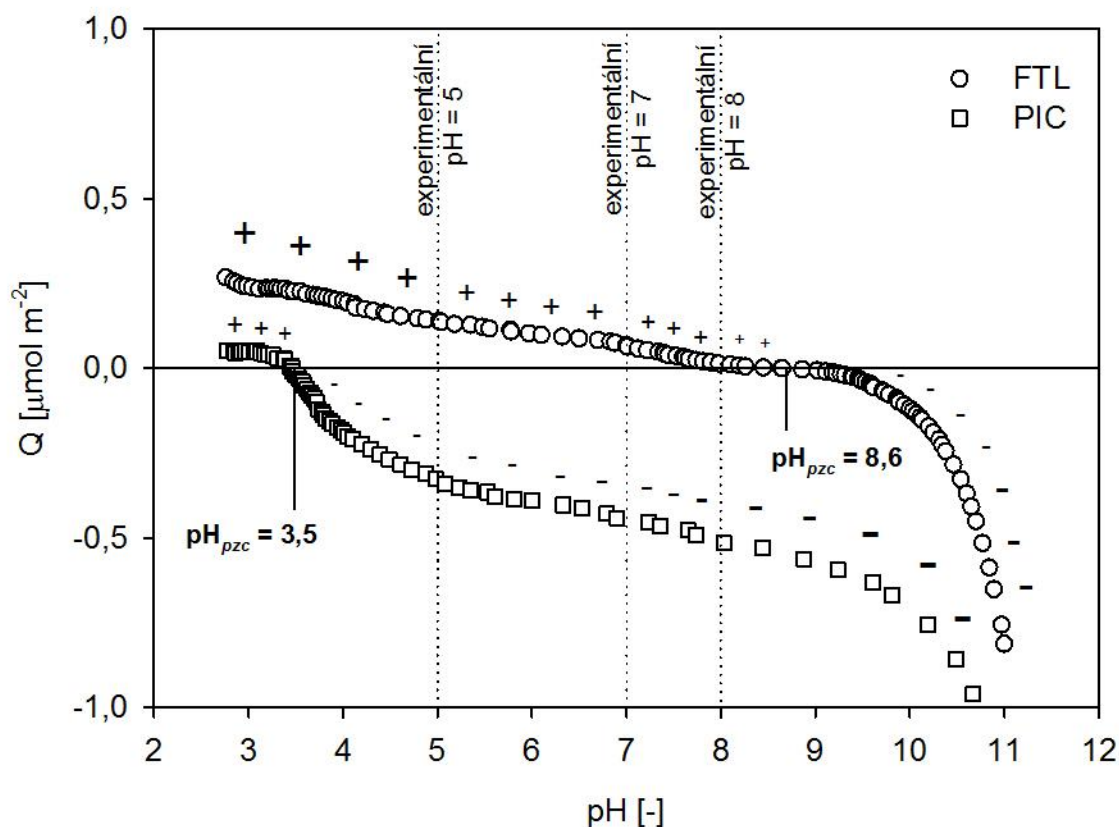
Obr. 8 SEM snímky vnějšího povrchové struktury GAU PIC (a) vyrobeného z rostlinného materiálu a GAU FTL (b) vyrobeného z černého uhlí. Snímky byly pořízeny přístrojem Vega 3 (Tescan, ČR) na ÚH AV ČR, v. v. i.

Hodnota specifického povrchu je důležitou vlastností AU při adsorpci mnoha organických sloučenin, v případě adsorpce přírodních organických látek ale nemusí být rozhodující. Významnou roli zde hraje především zastoupení jednotlivých skupin pórů a jejich vzájemný poměr, tj. velikostní distribuce pórů. Organické sloučeniny jsou přednostně adsorbovány v pórech podobné velikosti jako má adsorbovaná molekula. Z tohoto důvodu hraje důležitou roli vzájemný poměr mezi PSD a molekulovou hmotností daného adsorbátu (Li a kol., 2003; Moreno-Castilla, 2004). Některé studie prokázaly, že větší zastoupení mezopórů ve struktuře adsorbentu může vést k vyšší adsorpci AOM i DOM (Pendleton a kol., 2001; Li a kol., 2003; Huang a kol., 2007). Existují však také studie, které potvrdily, že pro adsorpci NOM jsou zásadní i mikropóry, tj. póry s nejmenším průměrem, které ale zároveň tvoří největší část adsorpčního povrchu AU (Donati a kol., 1994; Bjelopavlic a kol., 1999; Pendleton a kol., 2001; Dastgheib a kol., 2004). Vyšších hodnot mikroporozity z tohoto hlediska dosahuje adsorbent FTL, což se za určitých podmínek může projevit na posílení adsorpce.

4.1.2 Povrchový náboj

Experimentální stanovení hodnoty pH_{nbn} a celkového povrchového náboje AU má při popisu adsorpce polyiontů typu AOM velký význam. Lze si tak udělat představu o tom, jak se charakter povrchu AU vyvíjí v závislosti na hodnotě pH roztoku.

Výsledky stanovení povrchového náboje obou vybraných adsorbentů jsou zobrazeny na Obr. 9. Bylo prokázáno, že charakter povrchového náboje obou uhlí je značně odlišný a v závislosti na pH roztoku se výrazně mění. GAU FTL má hodnotu pH_{nbn} 8,6, zatímco u GAU PIC nastává pH_{nbn} při 3,5. Je zřejmé, že záporný povrchový náboj převažuje na povrchu GAU PIC při všech testovaných podmínkách a to od nejnižšího při pH 5 až po nejvyšší při pH 8. Z tohoto hlediska je možné GAU PIC označit za kyselý adsorbent. Srovnatelné výsledky charakterizace AU s nízkou hodnotou pH_{nbn} byly publikovány i ve studii Alvarez-Merino a kol. (2008). Záporný náboj AU je způsoben disociací přítomných kyselých kyslíkatých funkčních skupin, například karboxylové, fenolové, laktonové a laktolové (Moreno-Castilla, 2004; Newcombe, 2006). GAU FTL je naopak možné považovat za zásadité uhlí (Bandosz a Ania, 2006) s převažujícím kladným nábojem při $pH < 8,6$. Nejvyšších hodnot kladný náboj povrchu FTL dosahuje při pH 5, ale s růstem pH postupně klesá, až je dosaženo téměř neutrálního charakteru při pH kolem 8. Kladný náboj AU je způsoben především přítomností kyslíkatých povrchových komplexů zásaditého charakteru (např. pyrony a chromeny) nebo přítomností zvláštních míst uvnitř grafitických vrstev AU s vysokou elektronovou hustotou. Tyto oblasti jsou označovány za tzv. Lewisova bazická centra a jsou schopny přijímat z vodného roztoku protony a tvořit $H_3O^+ - \pi$ komplexy (Moreno-Castilla, 2004). Příčiny kladného náboje povrchu AU však nejsou dosud zcela objasněny a jsou stále předmětem výzkumu (Montes-Moran a kol., 2004).



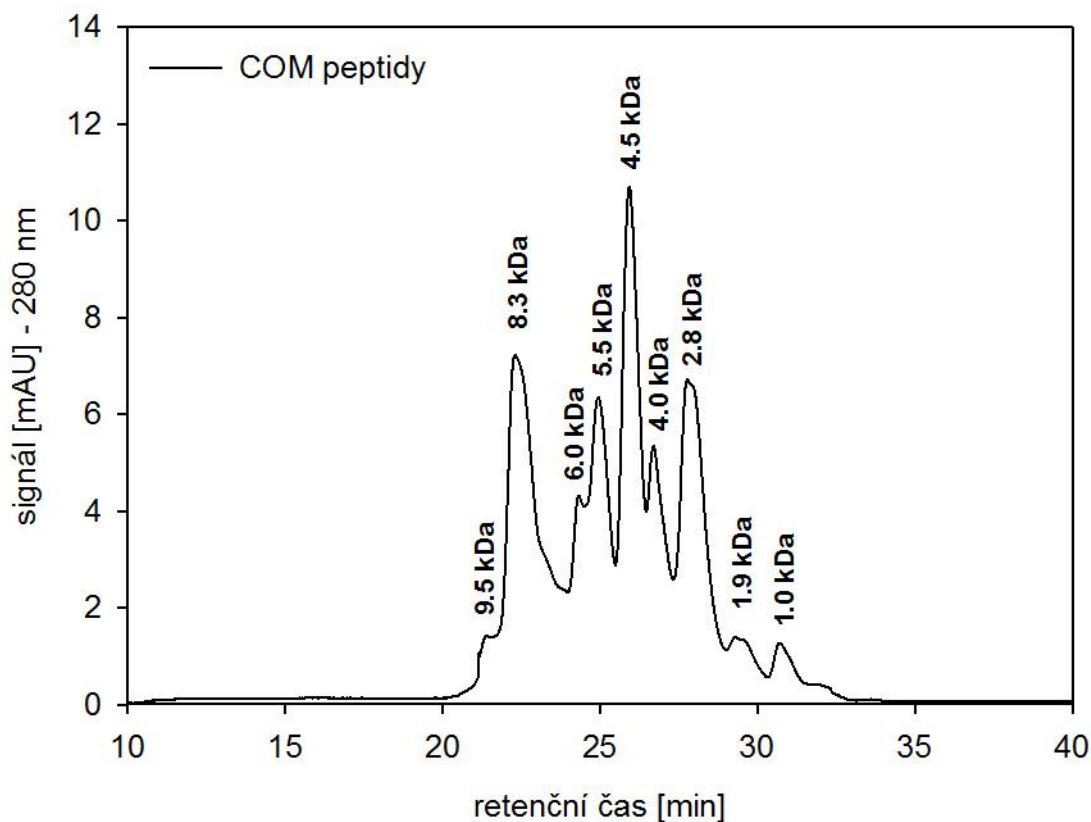
Obr. 9 Povrchový náboj GAU FTL a PIC.

4.2 Charakterizace COM peptidů

Zastoupení proteinových a neproteinových (polysacharidových) složek COM produkovaných sinicí *M. aeruginosa* bylo charakterizováno z hlediska obsahu rozpuštěného organického uhlíku (DOC). Na základě provedené analýzy bylo zjištěno, že vzorek COM obsahuje 62,9 % proteinových složek (vyjádřených jako DOC_P) a 37,1 % složek neproteinových (DOC_{NP}). Zjištěný poměr mezi proteinovou a neproteinovou složkou odpovídal výsledkům publikovaným v předchozích studiích Pivokonského a kol. (2006, 2009) a Hnat'ukové a kol. (2011).

4.2.1 Zastoupení molekulových hmotností

Na Obr. 10 jsou znázorněny výsledky SEC analýzy peptidů < 10 kDa vyizolovaných z COM sinice *M. aeruginosa* pomocí srážení síranem amonným a následné ultrafiltrace přes filtr 10 kDa (Millipore, USA). Prokázána byla přítomnost sloučenin s MH 1,0; 1,9; 2,8; 4,0; 4,5; 5,5; 6,0; 8,3 a 9,5 kDa, které se 21,2 % podílí na celkovém zastoupení proteinových látek obsažených v COM (DOC_P).



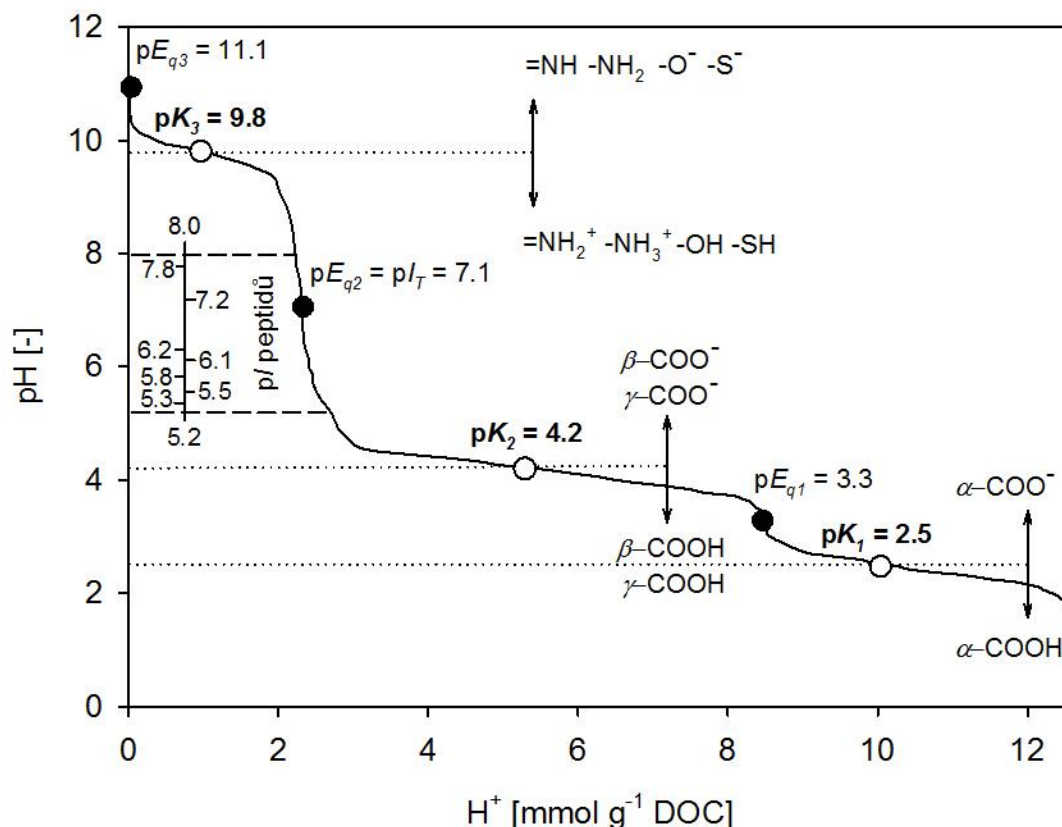
Obr. 10 Relativní molekulové hmotnosti COM peptidů sinice *M. aeruginosa*.

Je velmi pravděpodobné, že pík s MH 1,0 kDa zobrazený na Obr. 10 (retenční čas 31 min) představuje některý toxin ze skupiny mikrocytinů. Tyto oligopeptidy mají molekulovou hmotnost v rozmezí 994 – 1100 Da (Campinas a Rosa, 2006; Huang a kol., 2007).

4.2.2 Nábojové charakteristiky

Výsledky stanovení povrchového náboje COM peptidů jsou znázorněny na Obr. 11. Doplnující stanovení izoelektrických bodů (pI) obsažených peptidů bylo provedeno pomocí izoelektrické fokusace (IEF) a prokázalo přítomnost složek s hodnotami pI 5,2; 5,3; 5,5; 5,8; 6,1; 6,2; 7,2; 7,8 a 8,0. Počet změřených pI odpovídá počtu píků identifikovaných pomocí HPSEC analýzy peptidů, které jsou zobrazeny výše v Obr. 10. Vzhledem k omezeným možnostem použité metody IEF však není možné k jednotlivým izoelektrickým bodům přiřadit konkrétní molekulové hmotnosti.

Peptidy jsou sloučeniny amfoterního charakteru, které mají na svém povrchu řadu ionizovatelných funkčních skupin, například $-OH$, $-COOH$, $-SH$, $=NH_2$, $=NH_2^+$ nebo $-NH_3^+$. V závislosti na hodnotě pH mohou tyto skupiny přijímat nebo odštěpovat proton a udělují tak molekule peptidu kladný nebo záporný náboj (Chang, 2005). Na Obr. 11 je znázorněno množství protonů přidaných do roztoků v závislosti na pH , které odpovídá počtu disociovaných funkčních skupin ve struktuře peptidů. Patrné jsou zde i disociační konstanty (pK_1 , pK_2 , pK_3) charakterizující pH , při kterém je právě poloviční množství konkrétní funkční skupiny již disociováno a poloviční ještě ne. Dále jsou na titrační křivce zjevné i tři body ekvivalence (pE_{q1} , pE_{q2} , pE_{q3}), které značí pH , kde vliv jedné funkční skupiny při titraci končí a další začíná. Disociace peptidových skupin závisí nejen na jejich typu, ale i na pozici na řetězci (postranní, terminální) a přítomnosti sousedních skupin. Konkrétní pozice disociační konstanty pK_a je proto ovlivněna celkovým nábojem molekuly (Winzor, 2004). Lze předpokládat, že $pK_1 = 2,5$ a $pK_2 = 4,2$ odpovídají karboxylovým skupinám na terminální části molekuly ($\alpha-COOH$) a postranním řetězci (např. $\beta-COOH$ kyseliny asparagové má $pK_a = 3,9$ a $\gamma-COOH$ kyseliny *D*-glutamové má $pK_a = 4,3$) (Chang, 2005; Ho a kol., 2011). Hodnota $pK_3 = 9,8$ by naopak mohla být přiřazena skupinám jako například $-OH$, $-SH$, $=NH_2^+$, $-NH_3^+$, které mají disociační konstanty v oblasti zásaditého pH (např. $-SH$ s $pK_a = 8,8$, $-NH_3^+$ s $pK_a = 9,2$ nebo $-OH$ s $pK_a = 10,1$) (Dawson a kol., 1986).



Obr. 11 pH-titrační křivka COM peptidů sinice *M. aeruginosa* s disociačními konstantami (pK_1 , pK_2 , pK_3), body ekvivalence (pE_{q1} , pE_{q2} , pE_{q3}), celkovým izoelektrickým bodem směsi peptidů (pI_T) a izoelektrickými body jednotlivých peptidů (pI).

4.3 Adsorpční rovnovážné testy

4.3.1 Adsorpční izotermy

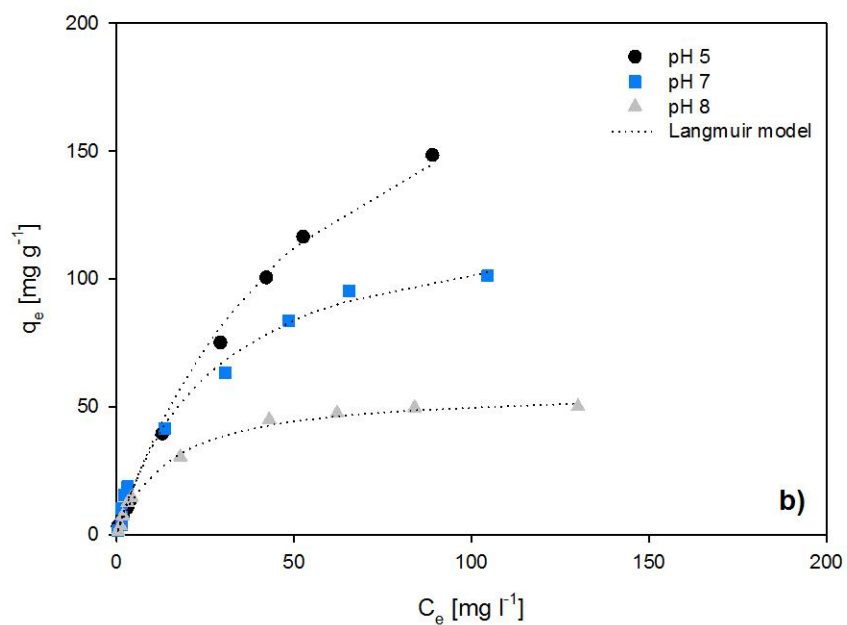
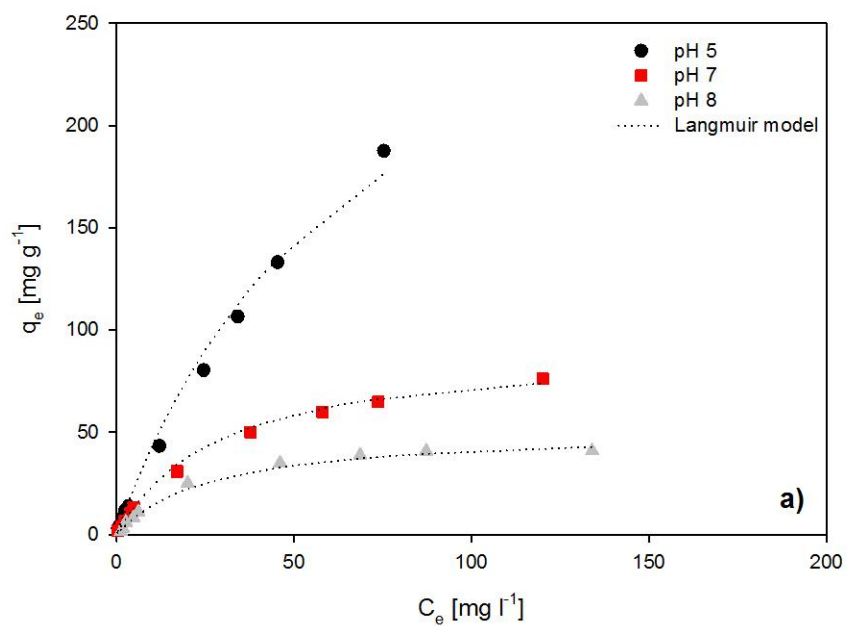
Z dostupné literatury je zřejmé, že adsorpce NOM na AU je nejčastěji popisována pomocí Freundlichovy (Newcombe a Drikas, 1997; Bjelopavlic a kol., 1999; Dastgheib a kol., 2004) a Langmuirovy izotermy (Cheng a kol., 2005). Obdobně je tomu i v případě adsorpce různých produktů řas a sinic, například mikrocystinu (Pendleton a kol., 2001; Campinas a Rosa, 2006; Huang a kol., 2007) nebo látek ovlivňujících chuť a pach vody, trisulfátu a β -cyclocitralu (Zhang a kol., 2011).

Ke zhodnocení adsorpční kapacity GAU FTL a PIC pro COM peptidy sinice *M. aeruginosa* byly na základě výsledků rovnovážných adsorpčních testů při pH 5, 7 a 8 sestrojeny adsorpční izotermy, které jsou znázorněny na Obr. 12.

Množství adsorbovaných COM peptidů bylo nejvyšší při pH 5 a postupně klesalo s růstem pH a to v případě obou použitých adsorbentů. Nejnižších hodnot adsorpční kapacity bylo dosaženo při pH 8. Rozdíl v naadsorbovaném množství peptidů dle pH byl výrazný zejména při vyšších rovnovážných koncentracích ($C_e > 20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Naopak, při velmi nízkých hodnotách $C_e < 20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ byl rozdíl pozorovatelný hůře. Celkově nejvyšší adsorpční kapacity pro peptidy bylo dosaženo při pH 5 na GAU PIC, což je zřejmě dáno jeho strukturními vlastnostmi, zejména větším specifickým povrchem, celkovým objemem pórů i vyšším zastoupením mezopórů v porovnání s FTL (Tab. 2). Nárůst účinnosti adsorpce produktů sinic na AU s větším podílem mezopórů a sekundárních mikropórů dokládají i výsledky řady zahraničních studií (Pendleton a kol., 2001; Dastgheib a kol., 2004; Cheng a kol., 2005; Huang a kol., 2007). S růstem pH na hodnotu 7 a 8 ale adsorpce peptidů postupně klesala. Mnohem výrazněji se tento pokles projevil v případě GAU PIC a FTL se tak stalo účinnějším. Pokles adsorpce peptidů dle pH a použitého GAU pak lze shrnout následovně:

$$\text{PIC}_{\text{pH } 5} > \text{FTL}_{\text{pH } 5} > \text{FTL}_{\text{pH } 7} > \text{PIC}_{\text{pH } 7} > \text{FTL}_{\text{pH } 8} > \text{PIC}_{\text{pH } 8}.$$

Možným vysvětlením rozdílné adsorpce COM peptidů na obou GAU jsou odlišné nábojové poměry v systému dané hodnotou pH. Z titrační křivky na Obr. 9 je zjevné, že v případě GAU FTL se jeho povrchový náboj mění z převažujícího kladného při pH 3 na neutrální při pH 8,6. Při vyšších hodnotách pH pak převažuje náboj záporný. Lze tedy předpokládat, že za všech experimentálních podmínek (pH 5, 7 a 8) převažoval na povrchu GAU FTL kladný náboj. V případě GAU PIC se jeho povrchový náboj mění z kladného při pH 3 na neutrální při pH 3,5 a od této hodnoty dál dominuje náboj záporný. Opět lze tedy předpokládat, že za všech experimentálních podmínek (pH 5, 7 a 8) převažuje na povrchu GAU PIC záporný náboj. Výsledky nábojové charakterizace peptidů (Obr. 11) také prokázaly, že při pH 5 – 8 mohou na svém povrchu nést jak kladně ($=\text{NH}_2^+$, $-\text{NH}_3^+$), tak i záporně nabitě ($-\text{COO}^-$) funkční skupiny. Díky tomu se mohou při adsorpci peptidů na GAU uplatňovat elektrostatické interakce.



Obr. 12 Adsorpční izotermy COM peptidů při různých hodnotách pH na GAU PIC (a) a FTL (b). C_e [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] představuje rovnovážnou koncentraci peptidů v roztoku a q_e [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$] jejich koncentraci na povrchu GAU.

Další funkční skupiny peptidů, například $-OH$ a $-SH$, zůstávají v protonizovaném stavu a posilují hydrofobní interakce mezi povrchem GAU a peptidy při všech testovaných hodnotách pH.

Při pH 5, kdy na povrchu PIC dominuje záporný náboj, byla adsorpce peptidů posílena působením přitažlivých elektrostatických interakcí mezi povrchem PIC a kladně nabitými skupinami peptidů (např. $=NH_2^+$, $\alpha-NH_3^+$, $\epsilon-NH_3^+$) (Burns a kol., 1996). Obdobné výsledky vyšší adsorpce DOM, složek AOM i sinicových metabolitů při nízkém pH byly potvrzeny v řadě studií (Newcombe a Drikas, 1997; Li a kol., 2003; Hnat'uková a kol., 2011; Ho a kol., 2011). S růstem pH však adsorpční kapacita PIC prudce poklesla a nejnižší hodnoty dosahovala při pH 8. Díky zvýšení pH na 7 a 8 totiž dochází k disociaci stále většího množství kyselých funkčních skupin, které nakonec na povrchu PIC zcela dominují. Záporný náboj PIC výrazně vzrůstá a postupně se začíná projevovat elektrostatické odpuzování mezi PIC a disociovanými $-COO^-$ skupinami peptidů. Zároveň je velmi pravděpodobné, že množství záporného náboje vzrůstá i ve směsi peptidů díky disociaci jiných funkčních skupin než karboxylových (např. $-S^-$) (Chang, 2005). Díky odpuzování mezi jednotlivými molekulami se tak peptidy stávají méně kompaktními a víc se od sebe navzájem separují, což zřejmě také přispívá k jejich menší adsorpci v oblasti alkalického pH (Gorham a kol., 2007).

Jak je znázorněno na Obr. 9, při pH 5 převažuje na povrchu FTL kladný náboj a adsorpce tak byla posílena působením přitažlivých elektrostatických interakcí mezi převážně kladným povrchem FTL a zápornými $-COO^-$ skupinami peptidů. S růstem pH na 7 a 8 kladný náboj povrchu FTL postupně klesá, vliv elektrostatických přitažlivých sil je stále slabší a adsorpční kapacita FTL tak postupně dosáhla nižší úrovně. Nejnižší odstranění peptidů z roztoku pomocí FTL bylo pozorováno při pH 8, kdy nese tento adsorbent na svém povrchu minimální nebo žádné množství kladného náboje. I přesto byla adsorpční kapacita FTL při pH 7 a pH 8 stále vyšší než v případě GAU PIC. Důvodem je zřejmě tvorba vodíkových můstků mezi protonizovanými skupinami na povrchu FTL a ve struktuře peptidů. Pozitivní vliv tvorby těchto specifických vazeb na adsorpci organických látek již byl v minulosti potvrzen (Yoon a kol., 1999; Hnat'uková a kol., 2011).

Kromě náboje NOM a AOM může hodnota pH ovlivňovat i tvar jejich molekul a tak následnou adsorpci (Joseph a kol., 2012). Lanaras a kol. (1991) a Huang a kol. (2007) toto potvrdili v případě toxinu mikrocystinu-LR, jehož vyšší účinnost adsorpce na AU při nízké

hodnotě pH (pH = 3) v porovnání s vysokým pH (pH = 8) je přičítána právě změně konformace molekul. S poklesem pH roztoku se snižují elektrostatické odpudivé síly, které normálně způsobují natažení molekul microcystinu-LR. Při jejich odstínění se molekuly mikrocytinu mohou svinout a zmenší tak svou velikost. Kromě toho se při nízkém pH mohou mezi takto stočenými molekulami a povrchem AU formovat vodíkové vazby, což vede k dalšímu zvýšení adsorpční kapacity. Důvodem vyšší adsorpce mikrocytinu-LR s poklesem pH dále může být i snížení jeho rozpustnosti vlivem převládající protonizace karboxylových skupin v oblasti kyselého pH (Pendleton a kol., 2001).

Experimentální data z adsorpčních testů byla dále vyhodnocena pomocí Freundlichova a Langmuirova modelu rovnovážné adsorpce. Parametry obou modelů jsou shrnuty v Tab. 3. Stanovené koeficienty determinace (R^2) ukazují, že experimentální data byla o něco lépe reprezentována modelem Langmuirovy izotermy, který je z toho důvodu zahrnut i v Obr. 12. Lepší korelace s tímto modelem byla patrná zejména při pH 8, kdy izotermy po počátečním růstu rychle dosahují rovné horizontální úrovně, což je důkazem nasycení uhlí daným adsorbátem a dosažení adsorpční rovnováhy (Langmuirův model: $R^2 = 0,994$ pro FTL, $R^2 = 0,988$ pro PIC; Freundlichův model: FTL $R^2 = 0,912$ pro FTL, $R^2 = 0,936$ pro PIC). Hodnoty parametrů K_l a K_f , které primárně odpovídají povrchové koncentraci při pokrytí GAU úplnou monovrstvou a adsorpční kapacitě, potvrdily trend klesající adsorpce peptidů s růstem pH v případě obou GAU. Ostatní dva parametry, $1/n$ a a_l , slouží ke zhodnocení síly a energie adsorpce. Velmi nízké hodnoty konstanty a_l naznačují, že při adsorpci COM peptidů byly obsazovány především větší póry s nižší energií (Campinas a Rosa, 2006). Nízké hodnoty $1/n$ zejména při pH 8 také potvrzují, že izotermy dosáhly maximální horizontální úrovně, kde je adsorpční kapacita obou GAU konstantní. Vyšší hodnoty $1/n$ při pH 5 naopak naznačují, že adsorpční vazby za těchto podmínek nejsou příliš silné (Snoeyink a Summers, 1999). Zdá se tedy, že vysoké adsorpční kapacity dosažené v oblasti kyselého pH nemusí být pouze výsledkem přímých interakcí mezi molekulami peptidů a GAU, ale pravděpodobně i změny jejich velikosti (Huang a kol., 2007; Ho a kol., 2011) nebo přitažlivých sil mezi peptidy samotnými (Gorham a kol., 2007; Qi a Schideman, 2008; Zhang a kol., 2011).

Tab. 3 Parametry Freundlichovy a Langmuirovy izotermy pro adsorpci COM peptidů na GAU FTL a PIC při různém pH.

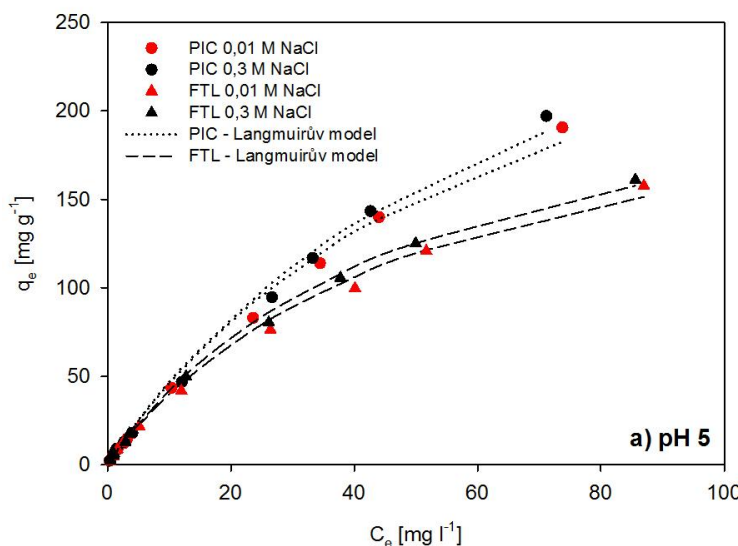
GAU	pH	Freundlich			Langmuir		
		K_f	$1/n$	R^2	K_l	a_l	R^2
FTL	5	5,20	0,77	0,987	235,64	0,018	0,956
	7	5,17	0,72	0,935	129,30	0,037	0,999
	8	3,95	0,61	0,912	56,81	0,070	0,994
PIC	5	5,67	0,82	0,996	335,03	0,015	0,988
	7	4,16	0,65	0,987	91,42	0,035	0,978
	8	2,49	0,65	0,936	50,01	0,043	0,988

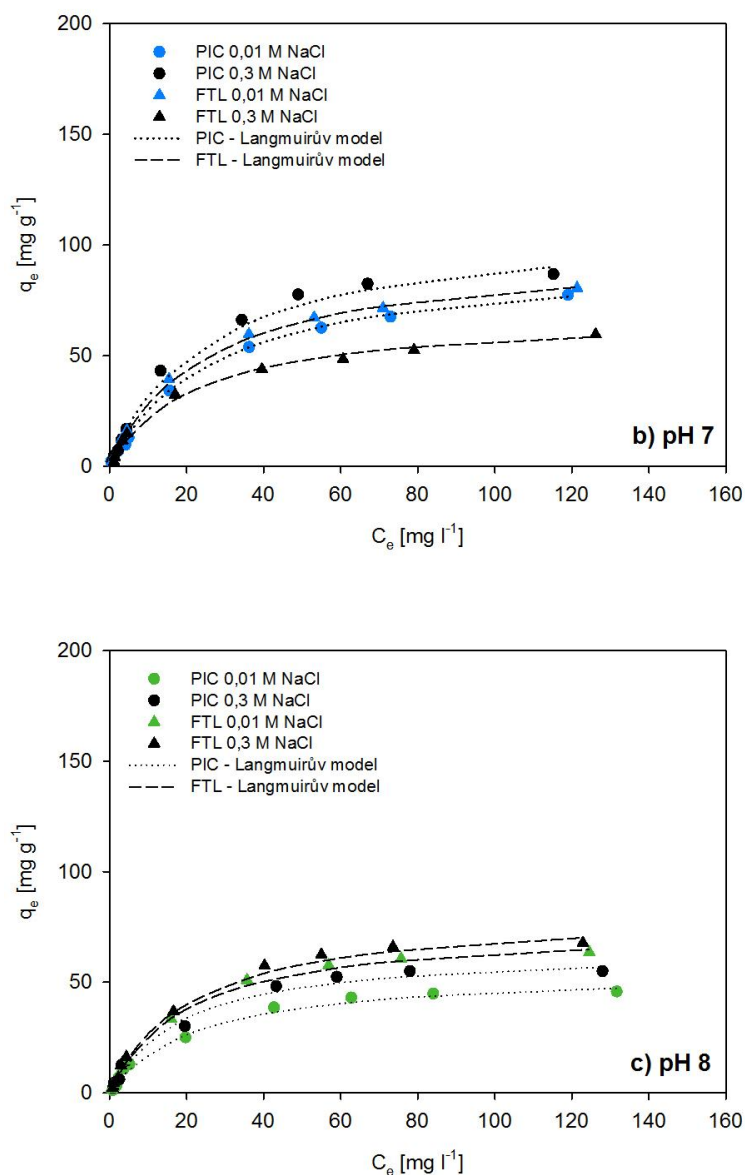
Jednotky: K_f [(mg·g⁻¹)(l·mg⁻¹)^{1/n}], n [-], R [-], K_l [mg·g⁻¹], a_l [l·mg⁻¹].

4.3.2 Vliv iontové síly

Iontová síla roztoku (IS) je další důležitý faktor, který ovlivňuje adsorpci organických látek na AU. Prostřednictvím přitažlivých nebo odpuzivých elektrostatických interakcí, které jsou iontovou silou bezprostředně ovlivněny, může být adsorpční kapacita AU zvýšena i snížena (Moreno-Castilla, 2004).

Pro posouzení vlivu iontové síly na adsorpci COM peptidů na GAU FTL a PIC byly provedeny adsorpční testy při pH 5, 7 a 8 a při nízké (0,01 M NaCl) a vysoké (0,3 M NaCl) IS. Výsledky těchto adsorpčních testů jsou zobrazeny na Obr. 13 a odpovídající parametry Freundlichova a Langmuirova modelu pak shrnuty v Tab. 4.





Obr. 13 Adsorpční izotermy COM peptidů při nízké (0,01 M NaCl) a vysoké (0,3 M NaCl) iontové síle při pH 5 (a), pH 7 (b) a pH 8 (c). C_e [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] představuje rovnovážnou koncentraci peptidů v roztoku a q_e [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$] jejich koncentraci na povrchu GAU. Modelová data Langmuirovy izotermy byla vypočtena z experimentálních dat dle rovnice (1) (kap. 2.1.5).

Výsledky prokázaly, že vliv IS na adsorpci COM peptidů se mění v závislosti na hodnotě pH roztoku a na typu použitého GAU. V případě GAU PIC zůstal zachován trend klesající adsorpce s růstem pH do neutrální a alkalické oblasti, který byl pozorován již při adsorpčních

testech bez přidaného NaCl popsaných v kap. 4.3.1. Ukázalo se ale, že zvýšená IS roztoku vedla k účinnější adsorpci peptidů v porovnání s těmito testy a to při všech hodnotách pH. Výrazně větší množství COM peptidů bylo navíc odstraněno při použití koncentrovanějšího elektrolytu, 0,3 M NaCl, v porovnání s testy při 0,01 M NaCl. Tyto výsledky byly potvrzeny i stanovenými hodnotami parametrů K_f a K_l (Tab. 3 vs. Tab. 4), které s růstem pH klesají a s vyšší iontovou silou naopak rostou. Vlivem vyšší IS (0,3 M NaCl) například vzrostla hodnota parametru K_l (odpovídá maximální adsorpční kapacitě) o 40,2 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ při pH 5, o 18,7 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ při pH 7 a o 15,1 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ při pH 8 v porovnání s testy bez NaCl. Pozitivní vliv nižší IS (0,01 M) nebyl tolik výrazný a vedl ke zvýšení maximální adsorpční kapacity pouze v rozmezí 2,7 – 7 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Tab. 3 a Tab. 4). Ke zvýšení adsorpce COM peptidů pravděpodobně přispělo odstínění záporného náboje na povrchu GAU PIC přidanými ionty soli. Došlo tak k omezení elektrostatických odpuzivých interakcí mezi povrchem GAU PIC, na němž výrazně převažuje záporný náboj, a disociovanými funkčními skupinami COM peptidů (např. $-\text{COO}^-$).

Tab. 4 Parametry Freundlichova a Langmuirova modelu izoterem pro adsorpci COM peptidů na GAU FTL a PIC při různém pH a iontové síle 0,01 M a 0,3 M NaCl.

Roztok	GAU	pH	Freundlich			Langmuir		
			K_f	$1/n$	R^2	K_l	a_l	R^2
0,01 M NaCl	FTL	5	5,22	0,81	0,988	238,71	0,020	0,965
		7	4,31	0,69	0,955	97,42	0,040	0,994
		8	4,13	0,65	0,957	75,10	0,051	0,997
	PIC	5	5,79	0,83	0,999	342,04	0,016	0,979
		7	4,21	0,66	0,987	94,13	0,037	0,985
		8	2,82	0,66	0,902	55,33	0,045	0,976
0,3 M NaCl	FTL	5	5,33	0,82	0,989	248,53	0,020	0,968
		7	3,96	0,62	0,908	68,51	0,046	0,976
		8	4,23	0,67	0,939	82,02	0,048	0,987
	PIC	5	5,84	0,84	0,998	375,22	0,014	0,991
		7	4,43	0,72	0,959	110,14	0,039	0,987
		8	4,05	0,62	0,931	65,13	0,054	0,986

Jednotky: K_f [$(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})(\text{l}\cdot\text{mg}^{-1})^{1/n}$], K_l [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$], a_l [$\text{l}\cdot\text{mg}^{-1}$], n [-] a R [-].

Podobný režim nárůstu adsorpce byl pro NOM huminového charakteru popsán a potvrzen v několika studiích (Newcombe a Drikas, 1997; Bjelopavlic a kol, 1999; Campinas a Rosa,

2006). Řada studií také prokázala, že vyšší IS může vést k odstranění většího množství adsorbátu díky změnám v jeho chemických a strukturních vlastnostech (Campinas a Rosa, 2006; Lu a Su, 2007). Bylo zjištěno, že zejména při vyšších povrchových koncentracích, kdy jsou molekuly peptidů v těsné blízkosti, mohou být intramolekulové odpudivé síly mezi jejich funkčními skupinami potlačeny přidáním solí. V důsledku toho pak dochází ke smrštění molekul peptidů a usnadnění jejich adsorpce (Bjelopavlic a kol., 1999).

V případě GAU FTL vedl nárůst IS k odstranění většího množství COM peptidů pouze v případě testů při pH 5 a pH 8 (Obr. 13 a, c). Pozitivní vliv zvýšení iontové síly roztoku je opět dobře patrný z porovnání parametrů izoterem v Tab. 3 a 4. Při IS 0,3 M NaCl například došlo k nárůstu parametru K_l v porovnání s testy bez NaCl (kap. 4.3.1) o 12,9 mg·g⁻¹ při pH 5 a o 25,2 mg·g⁻¹ při pH 8. Stejně jako v případě GAU PIC lze očekávat, že k nárůstu adsorpce peptidů došlo díky režimu zvýšené adsorpce odstíněním, případně zmenšení velikosti molekul peptidů (Bjelopavlic a kol., 1999).

V případě adsorpčních testů na GAU FTL při pH 7 byla situace zcela odlišná. Vlivem zvýšené IS došlo k poklesu adsorpce peptidů na tomto adsorbentu oproti testům bez NaCl. Ionty soli přidané do roztoku zřejmě odstínily přitažlivé elektrostatické interakce mezi kladně nabitým povrchem GAU FTL a disociovanými funkčními skupinami COM peptidů a došlo tak k omezení adsorpce. Pokles adsorpce byl patrný zejména při vysoké IS 0,3 M NaCl. Obdobné výsledky, kdy vlivem režimu snížené adsorpce došlo k omezení odstranění NOM z vody, jsou prezentovány v literatuře (Newcombe a Drikas, 1997; Bjelopavlic a kol., 1999).

4.3.3 Kinetika adsorpce COM peptidů

Adsorpční kinetika obecně popisuje rychlost, s jakou je daný adsorbát z roztoku odstraňován, a také jak je z koncentračního hlediska distribuován na fázovém rozhraní mezi roztokem a pevným povrchem adsorbentu (Faust a Aly, 1998). Pro popis adsorpční kinetiky COM peptidů v průběhu času byl použit empirický model pseudo-prvního řádu a pseudo-druhého řádu. Experimentální a modelová data pro adsorpci COM peptidů na GAU FTL a PIC při pH 5, 7 a 8 jsou graficky znázorněna na Obr. 14. Odpovídající parametry obou modelů jsou shrnuty v Tab. 5. Z koeficientů determinace R^2 je patrné, že experimentální data byla lépe popsána kinetickým modelem pseudo-druhého řádu, který byl proto zahrnut i do Obr. 14.

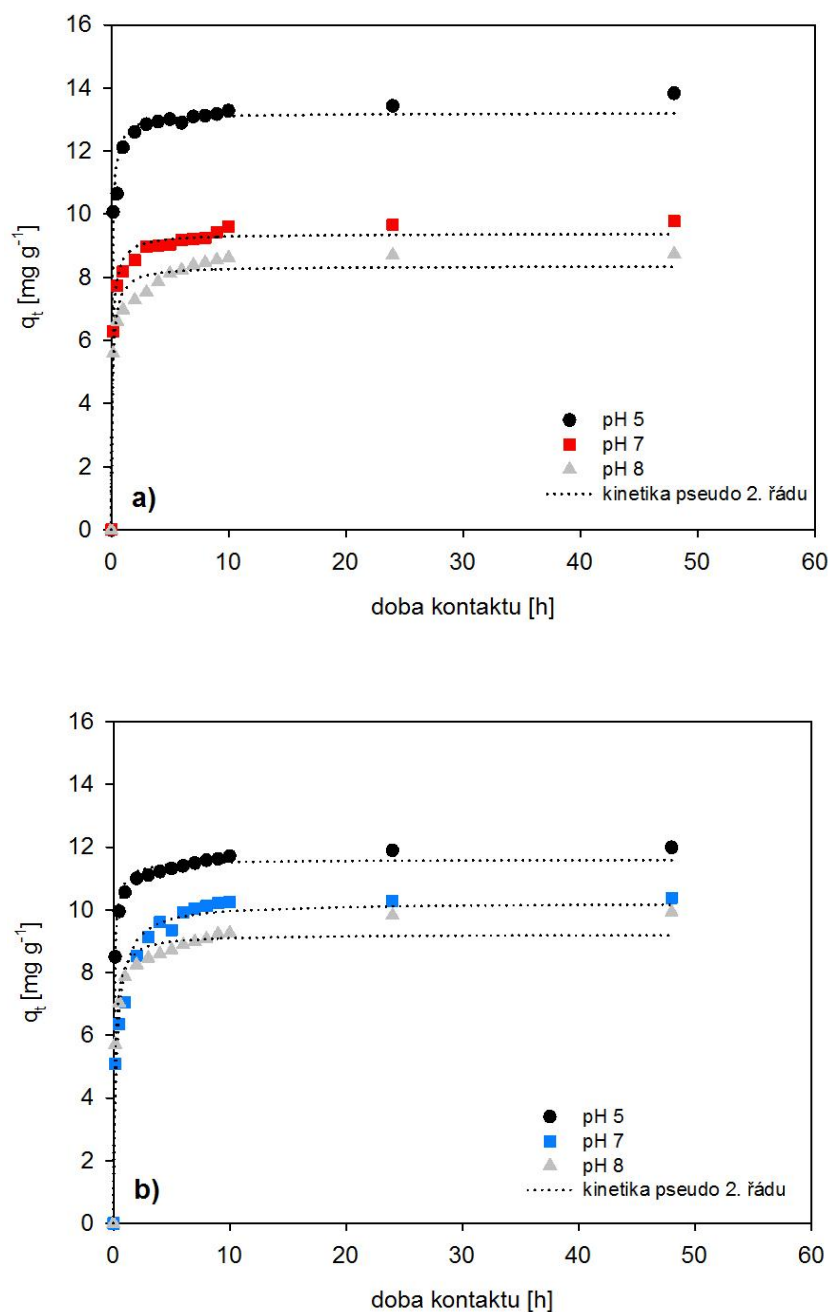
Povrchová koncentrace COM peptidů postupně s dobou kontaktu GAU a roztoku vzrůstala až do dosažení rovnováhy. Maximálního množství naadsorbovaných peptidů bylo dosaženo v průběhu 48 hod, proto byl tento interval použit i pro rovnovážné adsorpční testy ke zkonstruování izoterem. Hodnoty povrchové koncentrace peptidů (q_e) vypočtené pomocí obou kinetických modelů byly sice nižší než odpovídající experimentální hodnoty $q_{e\ exp}$. (Tab. 5), ale trend rostoucí povrchové koncentrace peptidů s poklesem pH byl zachován a odpovídal výsledkům rovnovážných adsorpčních testů (kap. 4.3.1.). Nejvyšších hodnot rychlostních konstant obou kinetických modelů bylo pro obě GAU dosaženo při pH 5 (Tab. 5), pro FTL: $k_1 = 7,79\ h^{-1}$ a $k_2 = 1,26\ g\ (mg\cdot h^{-1})$; pro PIC: $k_1 = 8,37\ h^{-1}$ a $k_2 = 1,15\ g\ (mg\cdot h^{-1})$.

Je známo, že velikost a konformace molekul adsorbátu ovlivňuje celkovou rychlost jeho adsorpce. Čím je molekula menší a kompaktnější, tím rychleji se adsorbuje (Faust a Aly, 1998). Vyšší hodnoty adsorpčních kapacit a účinnější adsorpce COM peptidů při pH 5 na obou GAU mohou proto být důsledkem vhodné konformace peptidů za těchto podmínek.

Tab. 5 Parametry kinetického modelu pseudo-prvního a pseudo-druhého řádu pro adsorpci COM peptidů na GAU FTL a PIC při pH 5, 7 a 8.

Roztok	AU	pH	$q_{e\ exp}$	Pseudo 1. řádu			Pseudo 2. řádu		
				q_e	k_1	R^2	q_e	k_2	R^2
destil. voda	FTL	5	11,63	11,33	7,79	0,974	11,60	1,26	0,994
		7	10,31	9,73	2,25	0,917	10,22	0,36	0,972
		8	9,24	8,88	4,49	0,934	9,21	0,84	0,977
	PIC	5	13,32	12,88	8,37	0,960	13,20	1,15	0,987
		7	9,40	9,10	6,24	0,959	9,38	1,11	0,989
		8	8,47	8,06	6,05	0,925	8,35	1,10	0,970

Jednotky: q_e a $q_{e\ exp}$ [$mg\cdot g^{-1}$], k_1 [h^{-1}], R [-]. k_2 [$g\ (mg\cdot h^{-1})$].



Obr. 14 Kinetika adsorpce COM peptidů na PIC (a) a FTL (b) při pH 5, 7 a 8. Hodnota q_t [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$] představuje povrchovou koncentraci COM peptidů v konkrétním čase (t). Modelové křivky kinetiky pseudo-druhého řádu byly zkonstruovány na základě dat vypočtených z experimentálních dat dle rovnice (4) (kap. 2.1.6.).

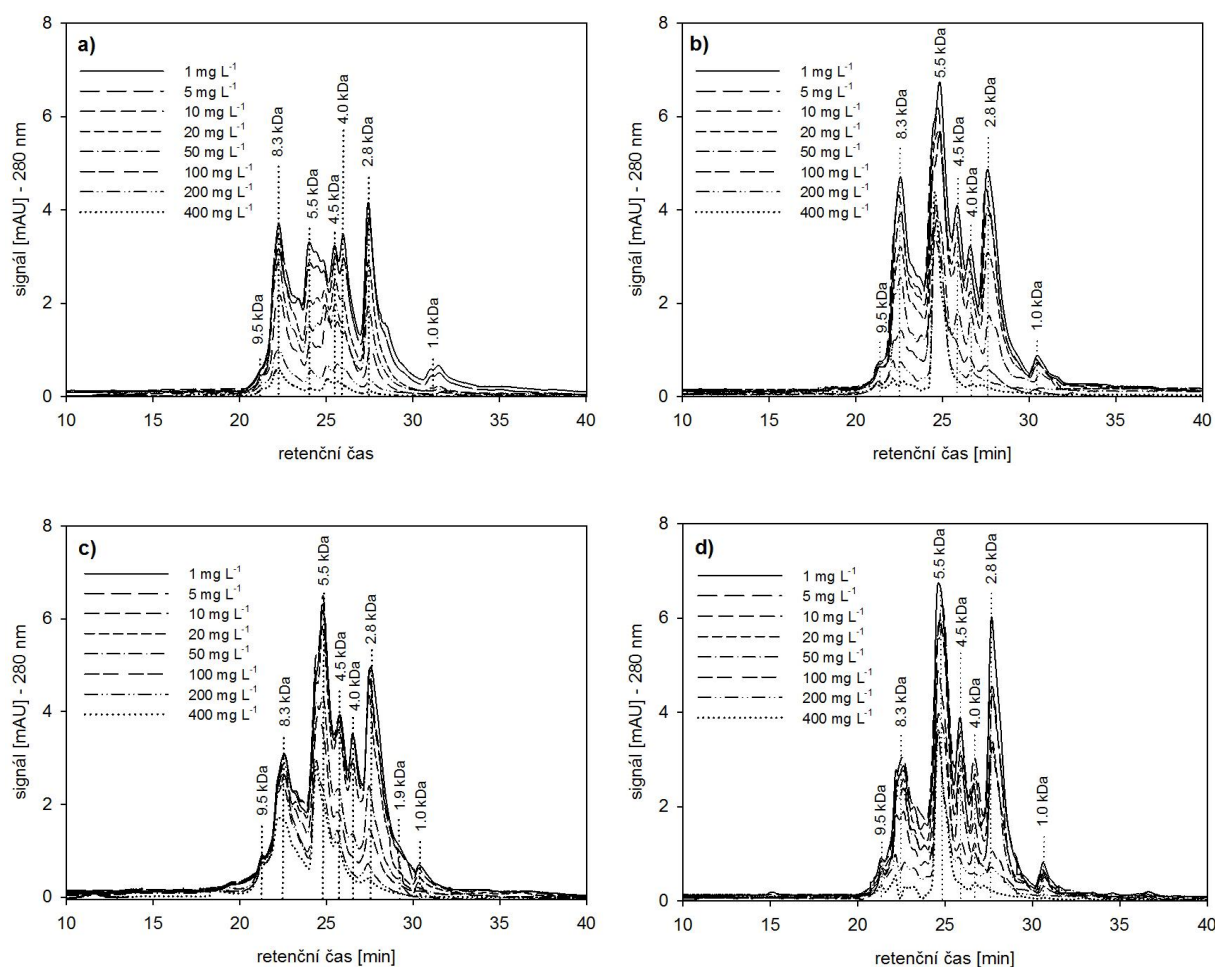
4.3.4 Distribuce molekulových hmotností COM peptidů po adsorpci

Distribuce MH COM peptidů, které byly identifikovány v roztoku po adsorpci na GAU PIC a FTL, jsou znázorněny na Obr. 15. Výsledky SEC analýz potvrdily trend klesající adsorpce peptidů s růstem pH z 5 na 7 a 8. Výsledné chromatogramy při pH 7 a 8 byly téměř identické, proto byly pro ilustraci konečných výsledků použity pouze výstupy z měření při pH 5 a 7. Provedené SEC analýzy obecně prokázaly, že všechny COM peptidy s MH v rozmezí 1 – 9,5 kDa se alespoň z části adsorbovaly. Důvodem je patrně vhodná velikostní distribuce pórů obou GAU, která umožnila adsorpci peptidů s takto širokou distribucí molekulových hmotností (Ebie a kol., 2001; Pendleton a kol., 2001). Při detailním porovnání chromatogramů pro oba adsorbenty jsou pozorovatelné drobné rozdíly v zastoupení MH, které lze přičítat texturním odlišnostem GAU PIC a FTL (Tab. 2).

Množství COM peptidů s MH 1,0, 2,8, 4,0, 4,5 a 5,5 kDa odstraněných z roztoku bylo přímo úměrné dávce použitého GAU PIC, jak je dobře patrné z poklesu signálu detektoru znázorněného na Obr. 15 a, c. Naopak peptidy s vyšší MH 8,3 kDa a 9,5 kDa byly v roztoku detekovány i po adsorpci při použití nejvyšší dávky GAU PIC ($400 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). Obdobně tomu bylo i v případě GAU FTL, jak je patrné z Obr. 15 b, d. Peptidy s nízkou MH (1,0 – 4,5 kDa) byly z roztoku odstraněny téměř kompletně již při dávce GAU FTL $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Nicméně i při použití nejvyšší dávky GAU FTL ($400 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) bylo odstraněno pouze malé množství COM peptidu s MH 5,5 kDa, což pravděpodobně souvisí s konformací tohoto peptidu za daných experimentálních podmínek (Pendleton a kol., 2001; Huang a kol., 2007). Vzhledem k tomu, že metoda SEC analýzy je založena pouze na měření velikosti molekul, nelze změřené MH považovat za absolutní hodnoty, ale pouze relativní (Newcombe a kol., 2002). Je tedy velmi pravděpodobné, že ačkoliv byla pro daný peptid zjištěna MH 5,5 kDa, může se jeho molekula nacházet například ve formě dlouhého řetězce, který dělicí kolonou chromatografu projde snadno a na detektoru je zaznamenán s relativně nízkým retenčním časem. Ve skutečnosti ale takto uspořádaný peptid do pórů GAU prostupuje jen obtížně a není tak dobře adsorbován.

Z celkového hlediska výsledky všech analýz ukazují, že peptidy s nižší MH ($\leq 4.5 \text{ kDa}$) byly při adsorpčních testech odstraněny přednostně v porovnání s peptidy s vyšší MH. Tyto výsledky jsou srovnatelné s výsledky dalších autorů studujících adsorpci různých frakcí NOM či AOM na aktivním uhlí (Ebie a kol., 2001; Li a kol., 2003; Hnat'uková a kol., 2011).

Výsledky LC/MS/MS analýz roztoků po adsorpčních experimentech potvrdily, že aktivní uhlí může být velmi vhodnou metodou pro odstraňování mikrocystinů z vody (Newcombe, 2006). Jak je vidět z Obr. 15, pík s MH 1,0 kDa, který lze přisuzovat právě mikrocystinům, nebyl ve vzorcích detekován po adsorpci na GAU při dávce 100 mg·l⁻¹ a vyšší. Zbytková koncentrace mikrocystinů byla velmi nízká po všech adsorpčních testech. Při počáteční koncentraci mikrocystinů 11,54 µg·l⁻¹ (suma mikrocystinu-LR, -RR a -YR při počáteční koncentraci COM 10 mg·l⁻¹ a dávce GAU 400 mg·l⁻¹) byla jejich zbytková koncentrace pro PIC 0,2 µg·l⁻¹ (pH 5) a 0,31 µg·l⁻¹ (pH 7) a pro FTL 0,5 µg·l⁻¹ (pH 5) a 0,6 µg·l⁻¹ (pH 7). Vyšší adsorpční účinnost GAU PIC (97,3 – 98 %) v porovnání s FTL (94,8 – 96 %) lze přičítat většímu zastoupení mezopórů v jeho struktuře, což bylo doloženo i v literatuře (Pendleton a kol., 2001; Huang a kol., 2007).



Obr. 15 Distribuce MH zbylých COM peptidů po adsorpci při různých dávkách AU PIC (a, c) a FTL (b, d) při pH 5 a pH 7.

5 ZÁVĚR

1. Vlastnosti GAU (chemismus povrchu, charakter povrchového náboje a velikostní distribuce pórů) a vlastnosti peptidů (MH, obsah funkčních skupin a charakter povrchového náboje), mají zásadní vliv na adsorpci těchto nízkomolekulárních organických látek.
2. Adsorpce COM peptidů na GAU je řízena celou řadou interakcí. Kromě hydrofobních interakcí se v závislosti na pH a nábojových poměrech v systému jedná zejména o elektrostatické přitažlivé a odpudivé interakce a tvorbu vodíkových můstků.
3. Povrchový náboj obou GAU i COM peptidů se mění v závislosti na pH roztoku. GAU FTL je zásaditý adsorbent s hodnotou pH_{nbn} 8,6. Na jeho povrchu převažuje kladný náboj při $pH < 8,6$. Naopak GAU PIC je kyselý adsorbent s hodnotou pH_{nbn} 3,5, na jehož povrchu převažuje záporný náboj při všech testovaných podmínkách. Nábojová charakterizace peptidů prokázala, že při pH 5 – 8 mohou na svém povrchu nést jak kladně (např. $=NH_2^+$, $-NH_3^+$), tak i záporně nabitě ($-COO^-$) funkční skupiny.
4. Množství adsorbovaných COM peptidů na obou GAU bylo nejvyšší při pH 5 a klesalo s růstem pH . Při této hodnotě pH bylo rovněž dosaženo nejvyšších hodnot kinetických rychlostních konstant pro obě GAU. Celkově nejvyšší adsorpční kapacita pro peptidy byla pozorována u GAU PIC při pH 5 v důsledku působení přitažlivých elektrostatických sil a díky většímu V_{total} a S_{mezo} v porovnání s FTL. Zvýšení hodnoty pH na 7 a 8 vedlo v případě obou GAU k poklesu adsorpce díky k elektrostatickému odpuzování mezi jejich povrchem a funkčními skupinami peptidů. Adsorpční kapacita FTL při pH 7 a 8 byla vyšší než v případě PIC díky tvorbě vodíkových můstků.
5. Iontová síla roztoku ovlivňuje adsorpci peptidů v závislosti na hodnotě pH roztoku a na typu použitého GAU. Zvýšená IS roztoku vedla k omezení odpudivých elektrostatických interakcí v systému a účinnější adsorpci peptidů v případě GAU PIC při všech hodnotách pH , v případě GAU FTL pouze při pH 5 a 8. Naopak v případě GAU FTL při pH 7 došlo zejména při vysoké IS 0,3 M NaCl ke snížení adsorpce vlivem odstínění přitažlivých elektrostatických interakcí.
6. COM peptidy s molekulovou hmotností v rozmezí 1 – 9,5 kDa se alespoň z části adsorbovaly na obou GAU, což lze přičítat jejich vhodné PSD. Peptidy s nižší

MH ($\leq 4,5$ kDa) byly při adsorpčních testech odstraněny přednostně v porovnání s peptidy s vyšší MH.

7. Aktivní uhlí je vhodným adsorbentem pro odstraňování mikrocystinů z vody. V případě GAU PIC bylo dosaženo adsorpční účinnosti 97,3 – 98 % a v případě FTL 94,8 – 96 %.

6 LITERÁRNÍ ZDROJE

- Adinata, D., Wan Daud, W.M.A., Aroua, M.K., 2007. Preparation and characterization of activated carbon from palm shell by chemical activation with K_2CO_3 . *Bioresource Technology* 98 (1), 145-149.
- Aiken, G., Cotsaris, E., 1995. Soil and hydrology- their effect on NOM. *Journal American Water Works Association* 87 (1), 36-45.
- Alvarez-Merino, M.A., Fontecha-Camara, M.A., Lopez-Ramon, M.V., Moreno-Castilla, C., 2008. Temperature dependence of the point of zero charge of oxidized and non-oxidized activated carbons. *Carbon* 46 (5), 778-787.
- Bandosz, T.J., Ania, C.O., 2006. Surface chemistry of activated carbons and its characterization. In: Bandosz, T.J., editor. *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediations*, Vol.7. Elsevier, New York, 159-218.
- Bandosz, T.J., Jagiello, J., Contescu, C., Schwarz, J.A., 1993. Characterization of the surface of activated carbon in term of their acidity constant distributions. *Carbon* 31 (7), 1193-1202.
- Bartovská, L., Šišková, M., 2005. Co je co v povrchové a koloidní chemii. VŠCHT, Praha.
- Bernhardt, H., Hoyer, O., Shell, H., Lüsse, B., 1985. Reaction mechanisms involved in the influence of algogenic organic matter on flocculation. *Journal for Water and Wastewater Research (Zeitschrift fur Wasser und Abwasser Forschung)* 18 (1), 18-30.
- Bindzar, J., Janda, V., Jeníček, P., Růžicková I., Strnadová, N., 2009. *Základy úpravy a čištění vod*. VŠCHT, Praha, 251 s.
- Biniak, S., Szymanski, G., Siedlewski, J., Swiatkowski, A., 1997. The characterization of activated carbons with oxygen and nitrogen surface groups. *Carbon* 35 (12), 1799-1810.
- Bjelopavlic, M., Newcombe, G., Hayes, R., 1999. Adsorption of NOM onto activated carbon: effect of surface charge, ionic strength, and pore volume distribution. *Journal of Colloid and Interface Science* 210 (2), 271-280.
- Boehm, H.P., 1994. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon* 32 (5), 759-769.
- Boehm, H.P., 2002. Surface oxides on carbon and their analysis: a critical assessment. *Carbon* 40 (2), 145-149.
- Brunauer, S., Emmet, P.H., Teller, E., 1938. Adsorption of gases in multimolecular layer. *Journal of American Chemical Society* 60 (2), 309-319.
- Burns, N.L., Holmberg, K., Brink, C., 1996. Influence of surface charge on protein adsorption at an amphoteric surface: effects of varying acid to base ratio. *Journal of Colloid and Interface Science* 178 (1), 116-122.
- Campinas, M., Rosa, M.J., 2006. The ionic strength effect on microcystin and natural organic matter surrogate adsorption onto PAC. *Journal of Colloid and Interface Science* 299 (2), 520-529.
- Caturla, F., Molina-Sabio, M., Rodriguez-Reinoso, F., 1991. Preparation of activated carbon by chemical activation with $ZnCl_2$. *Carbon* 29 (7), 999-1007.
- Cazetta, A.L., Junior, O.P., Vargas, A.M.M., Da Silva, A.P., Zou, X., Asefa, T., Almeida, V.C., 2013. Thermal regeneration study of high surface area activated carbon obtained from

- coconut shell: Characterization and application of response surface methodology. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 101 (1), 53-60.
- Centeno, T.A., Stoeckli, F., 2006. The role of textural characteristics and oxygen-containing surface groups in the supercapacitor performances of activated carbons. *Electrochimica Acta* 52 (2), 560-566.
- Codd, G.A., 2000. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological Engineering* 16 (1), 51-60.
- Contescu, A., Vass, M., Contescu, C., Putyera, K., Schwarz, J.A., 1998. Acid buffering capacity of basic carbons revealed by their continuous pK distribution. *Carbon* 36 (3), 247-258.
- Cook, D., Newcombe, G., 2002. Removal of microcystin variants with powdered activated carbon. *Water Science and Technology: Water Supply* 2 (5-6), 201-207.
- Dabrowski, A., 2001. Adsorption - from theory to practice. *Advances in Colloid and Interface Science* 93 (1-3), 135-224.
- Dastgheib, S.A., Karanfil, T., Cheng, W., 2004. Tailoring activated carbons for enhanced removal of natural organic matter from natural waters. *Carbon* 42 (3), 547-557.
- Dawson, R.M.C., Elliott, D.C., Elliott, W.H., Jones, K.M., 1986. *Data for Biochemical Research*, 3th ed. Oxford University Press, New York, 580 s.
- Din, A.T.M., Hameed, B.H., Ahmad, A.L., 2009. Batch adsorption of phenol onto physiochemical-activated coconut shell. *Journal of Hazardous Materials* 161 (1-3), 1522-1529.
- Donati, C., Drikas, M., Hayes, R., Newcombe, G., 1994. Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. *Water Research* 28 (8), 1735-1742.
- Ebie, K., Li, F., Azuma, Y., Yuasa, A., Hagashita, T., 2001. Pore distribution effect of activated carbon in adsorbing organic micropollutants from natural water. *Water Research* 35 (1), 167-179.
- Faria, P.C.C., Orfao, J.J.M., Pereira, M.F.R., 2004. Adsorption of anionic and cationic dyes on activated carbons with different surface chemistries. *Water Research* 38 (8), 2043-2052.
- Faust, S.D., Aly, O.M., 1998. *Chemistry of water treatment*, 2nd edition. Lewis Publisher, USA, 581 s.
- Fogg, G.E., 1983. The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Botanica Marina* 26 (1), 3-14.
- Gorham, J.M., Wnuk, J.D., Shin, M., Fairbrother, A., 2007. Adsorption of Natural Organic Matter onto Carbonaceous Surfaces: Atomic Force Microscopy Study. *Environmental Science and Technology* 41 (4), 1238-1244.
- Gupta, N., Pant, S.C., Vijayaraghavan, R., Rao, P.V.L., 2003. Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice. *Toxicology* 188 (2-3), 285-296.
- Henderson, R.K., Baker, A., Parsons, S.A., Jefferson, B., 2008. Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms. *Water Research* 42 (13), 3435-3445.
- Henderson, R.K., Parsons, S.A., Jefferson, B., 2010. The impact of differing cell and algogenic organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae. *Water Research* 44 (12), 3617-3624.

- Her, N., Amy, G., Park, H.R., Song, M., 2004. Characterizing algogenic organic matter (AOM) and evaluating associated NF membrane fouling. *Water Research* 38 (6), 1427-1438.
- Herranz, S., Marazuela, M.D., Moreno-Bondi, M.C., 2012. Automated portable array biosensor for multisample microcystin analysis in freshwater samples. *Biosensors and Bioelectronics* 33 (1), 50-55.
- Hnaťuková, P., Kopecká, I., Pivokonský, M., 2011. Adsorption of cellular peptides of *Microcystis aeruginosa* and two herbicides onto activated carbon: Effect of surface charge and interactions. *Water Research* 45 (11), 3359-3368.
- Ho, L., Lambling, P., Bustamante, H., Duker, P., Newcombe, G., 2011. Application of powdered activated carbon for the adsorption of cylindrospermopsin and microcystin toxins from drinking water supplies. *Water Research* 45 (9), 2954-2964.
- Hoyer, O., Bernhardt, H., Lüsse, B., 1987. The effect of ozonation on the impairment of flocculation by algogenic organic matter. *Journal for Water and Wastewater Research* 20 (4), 123-131.
- Huang, W.J., Cheng, B.L., Cheng, Y.L., 2007. Adsorption of Microcystin-LR by three types of activated carbon. *Journal of Hazardous Materials* 141 (1), 115-122.
- Chang, R., 2005. *Physical Chemistry for the Biosciences*, 2nd ed. University Science Books, USA, 677 s.
- Chen, C., Zhang, X.J., Zhu, L.X., Liu, J., He, W.J., Han, H.D., 2008. Disinfection by-products and their precursors in a water treatment plant in North China: seasonal changes and fraction analysis. *Science of the Total Environment* 397 (1-3), 140-147.
- Chen, J.P., Wu, S., Chong, K.H., 2003. Surface modification of a granular activated carbon by citric acid for enhancement of copper adsorption. *Carbon* 41 (10), 1979-1986.
- Cheng, W., Dastgheib, S.A., Karanfil, T., 2005. Adsorption of dissolved natural organic matter by modified activated carbons. *Water Research* 39 (11), 2281-2290.
- Choudry, G.G., 1984. Humic substances-structural, photophysical, photochemical and free radical aspects of interactions with environmental chemicals, Gordon and Breach, New York, 185 s.
- Inagaki, M., Tascon, J.M.D., 2006. Pore formation and control in carbon materials. In: Bandosz, T.J., editor. *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediations*, Vol.7. Elsevier, New York, 49-100.
- International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC, 1972. *Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units*, Butterworths, London.
- Ip, A.W.M., Bardford, J.P., McKay, G., 2010. A comparative study on the kinetics and mechanisms of removal of Reactive Black 5 by adsorption onto activated carbons bone char. *Chemical Engineering Journal* 157 (2-3), 434-442.
- Jaroniec, M., Choma, J., 2006. Characterization of nanoporous carbons by using gas adsorption isotherms. In: Bandosz, T.J., editor. *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediations*, Vol.7. Elsevier, New York, 107-153.
- Joseph, L., Joseph, R.V.F., Park, Y.G., Badawy, M., Saleh, H., Yoon, Y., 2012. Removal of natural organic matter from potential drinking water sources by combined coagulation and adsorption using carbon nanomaterials. *Separation and Purification Technology* 95, 64-72.

- Kaneko, K., 1994. Determination of pore size and pore size distribution 1. Adsorbents and catalysts. *Journal of Membrane Science* 96, 59-89.
- Karanfil, T., Kilduff, J.E., Schlautman, M.A., Weber, W.J., 1996. Adsorption of organic macromolecules by granular activated carbon. 1. Influence of molecular properties under anoxic solution condition. *Environmental Science and Technology* 30 (7), 2187-2194.
- Karanfil, T., Kilduff, J.E., Schlautman, M.A., Weber, W.J., 1998. The oxygen sensitivity of organic macromolecule sorption by activated carbon: Effects of solution chemistry. *Water Research* 32 (1), 154-164.
- Karanfil, T., Dastgheib, S.A., 2004. Trichloroethylene adsorption by fibrous and granular activated carbons: Aqueous phase, gas phase, and water vapor adsorption studies. *Environmental Science and Technology* 38 (22), 5834-5841.
- Karanfil, T., 2006. Activated carbon adsorption in drinking water treatment. In: Bandosz, T.J., editor. *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediations*, Vol.7. Elsevier, New York, 345-369.
- Kilduff, J.E., Karanfil, T., Chin, Y.P., Weber, W.J., 1996. Adsorption of natural organic polyelectrolytes by activated carbon: A size-exclusion chromatography study. *Environmental Science and Technology* 30 (4), 1336-1343.
- Kodikara, J., Barbour S.L., Fredlund, D. G., 1999. Proceedings. 8th Australian-New Zealand Conference on Geomechanics, Hobart, 15–17 February. Australian Geomechanics, Australia, 179 s.
- La France, P., Mazet, M.J., 1989. Adsorption of humic substances in the presence of sodium-salts. *Journal American Water Works Association* 81 (4), 155-162.
- Lanaras, T., Cook, C.M., Eriksson, J. E., Meriluoto, J. A. O., Hotokka, M., 1991. Computer modeling of the 3-dimensional structures of the cyanobacterial hepatotoxin Microcystin-LR and nodularin. *Toxicon* 29 (7), 901-906.
- Landsberg, J.H., 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Reviews in Fisheries Science* 10 (2), 113-390.
- Langmuir, I., 1917. The constitution and fundamental properties of solids and liquid. II. liquids. *Journal of the American Chemical Society* 39 (9), 1848-1906.
- Lastoskie, C., Gubbins, K.E., Quirke, N., 1993a. Pore-size distribution analysis of microporous carbon- a density – functional theory approach. *Journal of Physical Chemistry* 97 (18), 4786-4796.
- Lastoskie, C., Gubbins, K.E., Quirke, N., 1993b. Pore-size heterogeneity and the carbon slit pore- a density- functional theory model. *Langmuir* 9 (10), 2693-2702.
- Lecloux, A., Pirard, J.P., 1979. The importance of standard isotherms in the analysis of adsorption isotherms for determining the porous texture and solids. *Journal of Colloid and Interface Science* 70 (2), 265-281.
- Leenheer, J.A., Croue, J.P., 2003. Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology* 37 (1), 18A-26A.
- Leon-Leon, C.A., Radovic, L.R., 1994. Interfacial chemistry and electrochemistry of carbon surfaces. In: Thrower, P.A., editor. *Chemistry and Physics of Carbon*, Vol. 24. Marcel Dekker, New York, 213-310.

- LeVan, M.D., Carta, G., Yon, C.M., 1997. Adsorption and ion exchange. In: Green, D.W., editor. Perry's Chemical Engineers' Handbook, Section 16., 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1-66.
- LeVan, M.D., Vermeulen, T., 1981. Binary Langmuir and Freundlich isotherms for ideal adsorbed solutions. *Journal of Physical Chemistry* 85 (22), 3247-3250.
- Li, F., Yuasa, A., Ebie, K., Azuma, Y., 2003. Microcolumn test and model analysis of activated carbon adsorption of dissolved organic matter after precoagulation: effects of pH and pore size distribution. *Journal of Colloid Interface Science* 262 (2), 331-341.
- Lu, C., Su, F., 2007. Adsorption of natural organic matter by carbon nanotubes. *Separation and Purification Technology* 58 (1), 113-121.
- Marsh, H., Rodriguez-Reinoso, F., 2006. Activated carbon. Elsevier, Amsterdam, 536 s.
- Martin-Gullon, A., Prado-Burguete, C., Rodriguez-Reinoso, F., 1993. Effect of carbon properties on the preparation and activity of carbon-supported molybdenum sulfide catalysts. *Carbon* 31 (7), 1099-1104.
- McCreary, J.J., Snoeyink, V.L., 1980. Characterization and activated carbon adsorption of several humic substances. *Water Research* 14 (2), 151-160.
- Menendez-Diaz, J.A., Martin-Gullon, I., 2006. Types of carbon adsorbents and their production. In: Bandosz, T.J., editor. *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediations*, Vol.7. Elsevier, New York, 1-45.
- Mohan, D., Pittman, C.U., 2007. Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents - A critical review. *Journal of Hazardous Materials* 142 (1-2), 1-53.
- Montes-Moran, M.A., Menendez, J.A., Fuente, E., Suarez, D., 1998. Contribution of the basal planes to carbon basicity: An ab initio study of the H(3)O(+)-pi interaction in cluster models. *Journal of Physical Chemistry* 102 (29), 5595-5601.
- Montes-Moran, M.A., Suarez, D., Menendez, J.A., Fuente, E., 2004. On the nature of basic sites on carbon surfaces: An overview. *Carbon* 42 (7), 1219-1225.
- Moreno-Castilla, C., 2004. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. *Carbon* 42 (1), 83-94.
- Mui, E.L.K., Cheung, W.H., Valix, M., McKay, G., 2010. Mesoporous activated carbon from waste tyre rubber for dye removal from effluents. *Microporous and Mesoporous Materials* 130 (1-3), 287-294.
- Newcombe, G., Drikas, M., 1997. Adsorption of NOM onto activated carbon: electrostatic and non-electrostatic effects. *Carbon* 35 (9), 1239-1250.
- Newcombe, G., Drikas, M., Hayes, R., 1997. Influence of characterised natural organic material on activated carbon adsorption. 2. Effect on pore volume distribution and adsorption of 2-methylisoborneol. *Water Research* 31 (5), 1065-1073.
- Newcombe, G., Morrison, J., Hepplewhite, C., 2002. Simultaneous adsorption of MIB and NOM onto activated carbon. I. Characterisation of the system and NOM adsorption. *Carbon* 40 (12), 2135-2146.
- Newcombe, G., Cook, D., Brooke, S., Ho, L., Slyman, N., 2003. Treatment options for microcystin toxins: Similarities and differences between variants. *Environmental Technology* 24 (3), 299-308.

- Newcombe, G., 2006. Removal of natural organic material and algal metabolites using activated carbon. In: Newcombe, G., Dixon, D., editors. Interface science in drinking water treatment: Theory and application, Vol.10. Elsevier Ltd., Amsterdam, 133-153.
- Oberholster, P.J., Botha, A-M., Grobbelaar, J.U., 2004. *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water. African Journal of Biotechnology 3 (3), 159-168.
- Park, N., Kwon, B., Kim, S-D., Cho, J., 2006. Characterization of the colloidal and microbial organic matter with respect to membrane fouling. Journal of Membrane Science 275 (1-2), 29-36.
- Pelekani, C., Snoeyink, V.L., 1999. Competitive adsorption in natural water: role of activated carbon pore size. Water Research 33 (5), 1209-1219.
- Pelekani, C., Snoeyink, V.L., 2001. A kinetic and equilibrium study of competitive adsorption between atrazine and Congo red dye on activated carbon: the importance of pore size distribution. Carbon 39 (1), 25-37.
- Pendleton, P., Schumann, R., Wong, S.H., 2001. Microcystin-LR adsorption by activated carbon. Journal of Colloid and Interface Science 240 (1), 1-8.
- Perdue, E.M., 1984. Analytical constraints on the structural features of humic substances. Geochimica et Cosmochimica Acta 48 (7), 1435-1442.
- Pitter, P., 1999. Hydrochemie. VŠCHT Praha, 568 s.
- Pivokonský, M., Klouček, O., Pivokonská, L., 2006. Evaluation of the production, composition and aluminum and iron complexation of algogenic organic matter. Water Research 40 (16), 3045-3052.
- Pivokonský, M., Polášek, P., Pivokonská, L., Tomášková, H., 2009. Optimized reaction conditions for removal of cellular organic matter of *Microcystis aeruginosa* during the destabilization and aggregation process using ferric sulphate in water purification. Water Environment Research 81 (5), 514-522.
- Pivokonský, M., Šafaříková, J., Bubáková, P., Pivokonská, L., 2012. Coagulation of peptides and proteins produced by *Microcystis aeruginosa*: Interaction mechanisms and the effect of Fe-peptide/protein complexes formation. Water Research 46 (17), 5583-5590.
- Qi, S., Schideman, L.C., 2008. An overall isotherm for activated carbon adsorption of dissolved natural organic matter in water. Water Research 42 (13), 3353-3360.
- Radovic, L.R., Moreno-Castilla, C., Rivera-Utrilla, J., 2000. Carbon materials as adsorbents in aqueous solutions. In: Radovic, L.R., editor. Chemistry and physics of carbon, Vol. 27. Marcel Dekker, New York, 227-405.
- Randtke, S. J., Jepsen, C. P., 1982. Effects of salts on activated carbon adsorption of fulvic acids. Journal American Water Works Association 74 (2), 84-93.
- Rodriguez-Reinoso, F., Molina-Sabio, M., 1998. Textural and chemical characterization of microporous carbons. Advances in Colloid and Interface Science 76-77, 271-294.
- Sakoda, A., Kawazoe, K., Suzuki, M., 1987. Adsorption of tri-chloroethylene and tetra-chloroethylene from aqueous solutions on activated carbon-fibers. Water Research 21 (6), 717-722.
- Salame, I.I., Bandosz, T.J., 2003. Role of surface chemistry in adsorption of phenol on activated carbon. Journal of Colloid Interface Science 264 (2), 307-312.

- Shen, W., Li, S., Liu, Y., 2008. Surface chemical functional groups modification of porous carbon. *Recent Patents on Chemical Engineering* 1 (1), 27-40.
- Shim, J.W., Park, S.J., Ryu, S.K., 2001. Effect of modification with HNO₃ and NaOH on metal adsorption by pitch-based activated carbon fibers. *Carbon* 39 (11), 1635-1642.
- Schlautman, M.A., Morgan, J.J., 1994. Adsorption of aquatic humic substances on colloidal-size aluminum-oxide particles-influence of solution chemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58 (20), 4293-4303.
- Sing, K.S.W., 1982. Reporting physisorption data for gas/solid system with special reference to the determination of surface area and porosity. *Pure and Applied Chemistry* 54 (11), 2201-2218.
- Smíšek, M., Černý, S., 1964. *Aktivní uhlí*, SNTL, Praha, 322 s.
- Snoeyink, V.L., Summers, R.S., 1999. *Water Quality and Treatment - A handbook of community water supplies: Chapter 13 - Adsorption of organic compounds*, 5th ed. American Water Works Association, McGraw-Hill, New York, 1-83.
- Sontheimer, H., Crittenden, J.C., Summers, R.S., 1988. *Activated Carbon for Water Treatment*, 2nd ed. DVGW-Forschungsstelle, Karlsruhe, 722 s.
- Summers, R.S., Roberts, P.V., 1988. Activated carbon adsorption of humic substances: II. Size exclusion and electrostatic interactions. *Journal of Colloid and Interface Science* 122 (2), 382-397.
- Syamsiah, S., Hadi, I.S., 2004. Adsorption cycles and effect of microbial population on phenol removal using natural zeolit. *Separation and Purification Technology* 34 (1-3), 125-133.
- Szymanski, G., Karpinski, Z., Biniak, S., Swiatkowski, A., 2002. The effect of the gradual thermal decomposition of surface oxygen species on the chemical and catalytic properties of oxidized activated carbon. *Carbon* 40 (14), 2627-2639.
- Šafaříková, J., Barešová, M., Pivokonský, M., Kopecká, I., 2013. Influence of peptides and proteins produced by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on the coagulation of turbid waters. *Separation and Purification Technology* 118, 49-57.
- Takaara, T., Sano, D., Konno, H., Omura, T., 2005. Affinity isolation of algal organic matters able to form complex with aluminium coagulant. *Water Science and Technology, Water Supply* 4 (5-6), 95-102.
- Takaara, T., Sano, D., Konno, H., Omura, T., 2007. Cellular proteins of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride. *Water Research* 41 (8), 1653-1658.
- Terzyk, A.P., 2004. The effect of carbon surface chemical composition on the adsorption of acetanilide. *Journal of Colloid Interface Science* 272 (1), 59-75.
- U.S. Environmental Protection Agency, EPA, 2007. Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, D.C., USA, 72 s.
- Van de Steeg, H.G.M, Cohen Stuart, M.A., De Keizer, A., Bijsterbosch, B. H., 1992. Polyelectrolyte adsorption: a subtle balance of forces. *Langmuir* 8 (10), 2538-2546.
- Wang, X., Zhu, N., Yin, B., 2008. Preparation of sludge-based activated carbon and its application in dye wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials* 153 (1-2), 22-27.

- World Health Organization, WHO, 1998. Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR. Guidelines for drinking-water quality. World Health Organization, Geneva, 95-110.
- Winzor, D.J., 2004. Determination of the net charge (valence) of a protein: a fundamental but elusive parameter. *Analytical Biochemistry* 325 (1), 1-20.
- Yin, C.Y., Aroua, M.K., Daud, W.M.A.W., 2007. Review of modifications of activated carbon for enhancing contaminant uptakes from aqueous solutions. *Separation and Purification Technology* 52 (3), 403-415.
- Yoon, J.Y., Kim, J.H., Kim, W.-S., 1999. The relationship of interaction forces in the protein adsorption onto polymeric microspheres. *Colloids and Surfaces A* 153 (1-3), 413-419.
- Zdravkov, B., Čermák, J.J., Janků, J., Kučerová, V., Šefara, M., 2008. Kategorizace pórů v pórezních matricích. *Chemické Listy* 102, 434-438.
- Zhang, K., Gao, N., Deng, Y., Shui, M., Tang, Y., 2011. Granular activated carbon (GAC) adsorption of two algal odorants, dimethyl trisulfide and β -cyclocitral. *Desalination* 266 (1), 231-237.